

Untersuchungen zur Rückstandsdynamik des Azolfungizids Prochloraz in Böden

von der Gemeinsamen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina
zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

genehmigte
D i s s e r t a t i o n

von Andreas Höllrigl-Rosta
aus Wolfsburg

1. Referent:	Prof. Dr. mult. Dr. h.c. A. M. Bahadir
2. Referent:	Prof. Dr. U. Engelhardt
eingereicht am:	30.11.1998
mündliche Prüfung (Disputation) am:	29.01.1999
Druckjahr:	1999

Mehr Licht!

J. W. v. Goethe

Vorabveröffentlichungen der Dissertation

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Gemeinsamen Naturwissenschaftlichen Fakultät, vertreten durch den Mentor der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht

HÖLLRIGL-ROSTA, A., R. KREUZIG und M. BAHADIR (1996): Labor- und Freilandexperimente zum Rückstandsverhalten des Azolfungizids Prochloraz in Böden. Poster bei der Abschlußtagung des DFG-Sonderforschungsbereichs 179 „Wasser- und Stoffdynamik in Agrarökosystemen“, Braunschweig, Dezember 1996.

HÖLLRIGL-ROSTA, A., R. KREUZIG und M. BAHADIR (1998): Investigations on the Metabolic Fate of Prochloraz in Soil under Field and Laboratory Conditions. *Pestic. Sci.* **55(5)**, 531-538.

HÖLLRIGL-ROSTA, A., H. RÜTTERS, R. KREUZIG und M. BAHADIR (1998): Abbau und Sorption des Azolfungizids Prochloraz in Böden. Poster bei der Pflanzenschutztagung der Biologischen Bundesanstalt, Halle, Oktober 1998.

Die vorliegende Arbeit wurde vom April 1994 bis zum Mai 1998 am Institut für Ökologische Chemie und Abfallanalytik der TU Braunschweig unter Leitung von Herrn Prof. Dr. mult. Dr. h.c. A. M. Bahadir angefertigt.

Herrn Prof. Dr. mult. Dr. h.c. A. M. Bahadir danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie die wohlwollende Förderung und stete Diskussions- und Hilfsbereitschaft während ihrer Durchführung.

Herrn Dr. R. Kreuzig gilt mein besonderer Dank zum einen für seine engagierte und fachkundige Betreuung und zum anderen für die vielen hilfreichen Anregungen und Diskussionen bei der experimentellen Durchführung und schriftlichen Abfassung dieser Arbeit.

Allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen am Institut für Ökologische Chemie danke ich für die kollegiale Zusammenarbeit, viele fruchtbare Diskussionen und die ausgesprochen gute Arbeitsatmosphäre. Insbesondere gebührt mein Dank all jenen Kolleginnen und Kollegen, die mit mir und für mich eine Reihe von Parametern an „ihren“ Geräten neben ihrer eigentlichen Arbeit bestimmt haben.

Bei Herrn B. Hüners aus Nienwohlde und Herrn O. Bormann aus Neuenkirchen bedanke ich mich dafür, daß ich meine Freilandversuche auf ihren Feldern und mit ihrer Unterstützung durchführen konnte.

Mein Dank geht weiterhin an die wissenschaftlichen Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen aus anderen Projekten des SFB 179, die mir wichtige Informationen insbesondere bodenkundlicher Natur zur Verfügung stellten und mir damit den interessanten Blick über den „Tellerrand“ des eigenen Fachgebiets ermöglichten.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft gilt mein Dank für die finanzielle Förderung dieser Arbeit im Rahmen des DFG-Sonderforschungsbereichs 179 „Wasser- und Stoffdynamik in Agrarökosystemen“.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Pflanzenschutzmittel in der Umwelt.....	1
1.2	Mikrobieller und chemischer Abbau von Pflanzenschutzmitteln	4
1.3	Photochemische Reaktionen von Pflanzenschutzmitteln	7
1.4	Bildung und Bedeutung nichtextrahierbarer Rückstände	8
1.5	Analytik von Prochloraz.....	9
1.5.1	<i>Bestimmung mittels Gaschromatographie (GC)</i>	9
1.5.2	<i>Bestimmung mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)</i>	10
1.6	Sorptionseigenschaften von Prochloraz und Metaboliten	11
1.7	Zielsetzung.....	14
2	Charakterisierung des Wirkstoffes und der eingesetzten Böden	17
2.1	Der fungizide Wirkstoff Prochloraz	17
2.2	Die Böden der Untersuchungsstandorte	21
2.2.1	<i>Neuenkirchen</i>	21
2.2.2	<i>Nienwohlde</i>	22
3	Material und Methoden	25
3.1	Verwendete Chemikalien und Geräte	25
3.1.1	<i>Chemikalien und Verbrauchsmaterialien</i>	25
3.1.2	<i>Geräte</i>	28
3.2	Probenaufarbeitung.....	29
3.2.1	<i>Aufarbeitung von Bodenproben für die Rückstandsanalytik</i>	29
3.2.2	<i>Aufarbeitung von Bodenproben für die Radiotraceranalytik</i>	31
3.3	Analytische Nachweismethoden.....	32
3.3.1	<i>Methoden der Rückstandsanalytik</i>	32
3.3.2	<i>Derivatisierungsreaktionen</i>	35
3.3.3	<i>Methoden der Radiotraceranalytik</i>	37
3.4	Auswertung der Meßergebnisse.....	40
3.4.1	<i>Rückstandsanalytik mit HPLC/DAD</i>	40
3.4.2	<i>Radiotraceranalytik</i>	41
3.5	Bestimmung ergänzender Bodenparameter	42
3.5.1	<i>Wassergehalt</i>	42
3.5.2	<i>Mikrobielle Bodenaktivität</i>	42

3.5.3	<i>Organischer Kohlenstoff</i>	43
3.5.4	<i>Körnungsanalyse</i>	44
3.5.5	<i>pH-Wert</i>	44
3.6	<i>Abbauexperimente</i>	45
3.6.1	<i>Feldversuche</i>	45
3.6.2	<i>Laborversuche unter Lichtausschluß</i>	45
3.6.3	<i>Laborversuche unter UV-Bestrahlung</i>	49
3.7	<i>Abfallbehandlung und Arbeitssicherheit</i>	51
3.7.1	<i>Arbeiten mit nicht markierten Substanzen</i>	51
3.7.2	<i>Arbeiten mit Radiotracern</i>	53
4	Ergebnisse und Diskussion	55
4.1	<i>Rückstandsanalytische Bestimmung von Prochloraz und seinen Metaboliten</i>	55
4.1.1	<i>Versuche zur Bestimmung mittels Gaschromatographie (GC)</i>	55
4.1.2	<i>Bestimmung mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und Diodenarraydetektion (HPLC/DAD)</i>	60
4.1.3	<i>Derivatisierungsreaktionen</i>	65
4.1.4	<i>Dünnschichtchromatographische Bestimmung von ¹⁴C-markiertem Prochloraz und Metaboliten</i>	70
4.2	<i>Feldversuche zur Rückstandsdynamik von Prochloraz</i>	72
4.2.1	<i>Abbau nach Applikation in den Bestand (1995)</i>	72
4.2.2	<i>Abbau nach direkter Bodenapplikation (1996)</i>	74
4.2.3	<i>Bewertung der Rückstandsdynamik von Prochloraz unter Feldbedingungen</i>	76
4.3	<i>Laborversuche zur Rückstandsdynamik von Prochloraz unter Lichtausschluß</i>	78
4.3.1	<i>Abbau von nicht markiertem Prochloraz im Boden NK284</i>	78
4.3.2	<i>Abbau von ¹⁴C-markiertem Prochloraz im Boden NK284</i>	79
4.3.3	<i>Abbau von Prochloraz in den Böden NK284 und NW212T3 bei 30 °C</i>	82
4.3.4	<i>Einfluß des organischen Kohlenstoffs auf den Abbau von Prochloraz</i>	83
4.3.5	<i>Einfluß der Bodentextur auf den Abbau von Prochloraz</i>	86
4.3.6	<i>Einfluß der mikrobiellen Bodenaktivität auf den Abbau von Prochloraz</i>	87
4.3.7	<i>Diskussion des Einflusses der variierten Bodenparameter auf die Rückstandsdynamik von Prochloraz</i>	88

4.4	Laborversuche zum Abbau von Prochloraz bei Bestrahlung mit UV-Licht	94
4.4.1	<i>Vorversuche mit einer handelsüblichen „Heimsonne“</i>	<i>94</i>
4.4.2	<i>Versuche mit detaillierter Bilanzierung in der Bestrahlungsapparatur.....</i>	<i>95</i>
4.4.3	<i>Diskussion des Einflusses von Licht auf die Rückstandsdynamik von Prochloraz</i>	<i>98</i>
5	Zusammenfassung	101
6	Literatur	105
	Anhang	119

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

BBA	Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
C _{org}	organischer Kohlenstoff
DAD	Diodenarraydetektor
DC	Dünnschichtchromatographie
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DNBC	Dinitrobenzoylchlorid
DT ₅₀	berechnete Halbwertszeit
ECD	Elektroneneinfangdetektor
EI	Elektronenstoßionisation
GC	Gaschromatographie
GPC	Gelpermeationschromatographie
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
KAS	Kaltaufgabesystem
K _d	Verteilungskoeffizient
K _{oc}	auf den C _{org} -Gehalt normierter Verteilungskoeffizient
LSC	Flüssigszintillationszähler
Min	Mineralisation
MNNG	1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidin
MS	Massenspektrometrie
n.n.	nicht nachweisbar
NCI	negative chemische Ionisation
neR	nichtextrahierbare Rückstände
NK	Neuenkirchen (SFB-Versuchsstandort)
NPD	Stickstoff/Phosphor-selektiver Detektor
NW	Nienwohlde (SFB-Versuchsstandort)
PCI	positive chemische Ionisation
PCZ	Prochloraz
PCZ-FH	Prochloraz-Formylharnstoff
PCZ-H	Prochloraz-Harnstoff
PFBC	Pentafluorbenzoylchlorid
R _f -Wert	relative Laufstrecke einer Substanz in der DC

SFB	Sonderforschungsbereich
TFAA	Trifluoressigsäureanhydrid
TPF	Triphenylformazan
TTC	Triphenyltetrazoliumchlorid
unbk1, unbk2	nicht identifizierte Abbauprodukte von Prochloraz
WFR	Wiederfindungsrate
WK _{max}	maximale Wasserkapazität

1 Einleitung

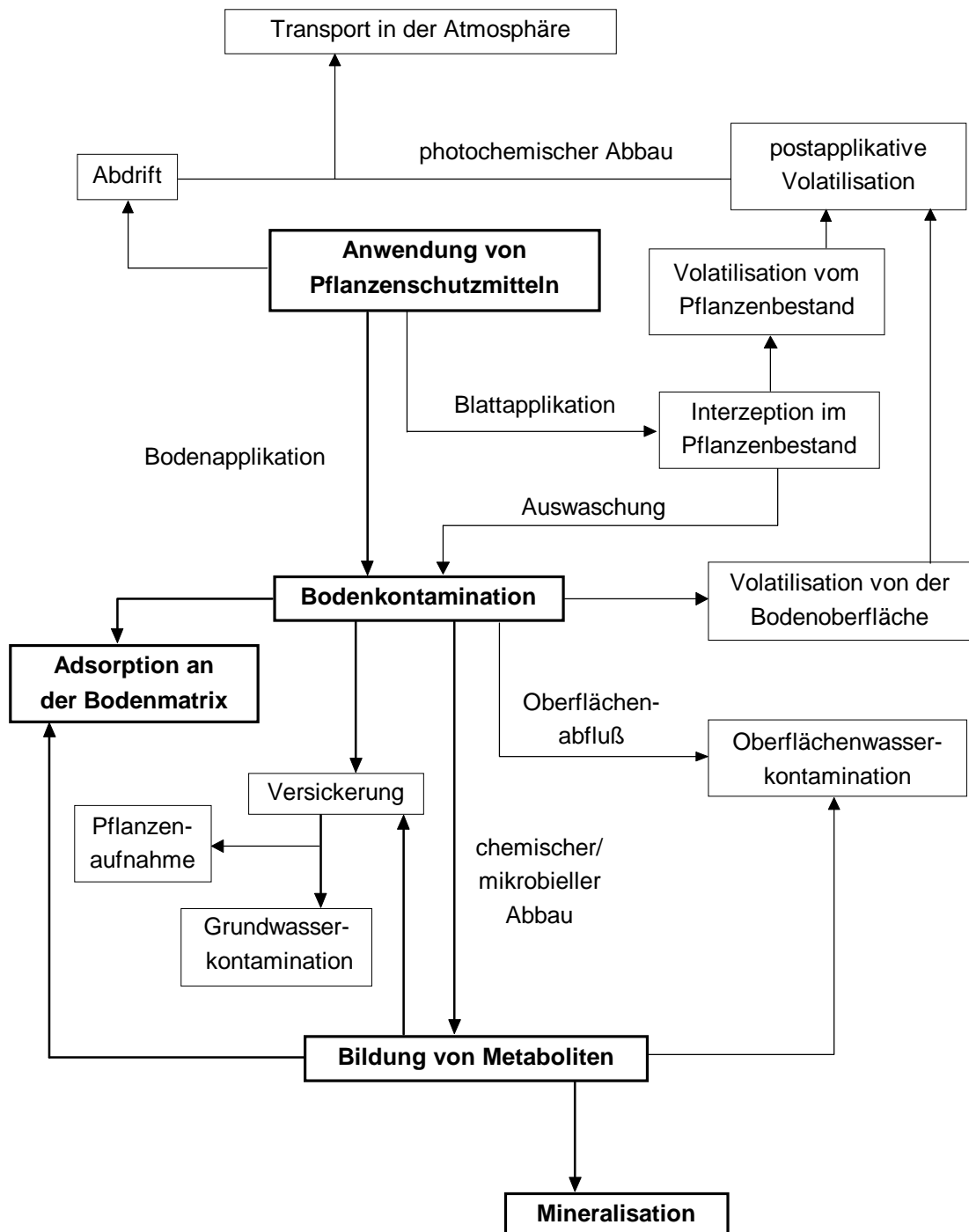
1.1 Pflanzenschutzmittel in der Umwelt

Pflanzenschutzmittel werden nach dem Gesetz zum Schutz der Kulturpflanzen von 1968 in der Neufassung von 1986 (Pflanzenschutzgesetz; PflSchG) definiert als „Stoffe, die dazu bestimmt sind, Pflanzen oder Pflanzenerzeugnisse vor Tieren, Pflanzen oder Mikroorganismen oder sonstigen Schadorganismen zu schützen“. In der modernen Intensivlandwirtschaft, die eine Optimierung der Erträge auf möglichst geringer Anbaufläche und bei einem möglichst geringen Einsatz menschlicher Arbeitskraft anstrebt, stellen Pflanzenschutzmittel einen wesentlichen Produktionsfaktor dar. In der Bundesrepublik Deutschland wurden 1995 insgesamt 34531 t Pflanzenschutzmittelwirkstoffe abgesetzt (SCHMIDT, 1998). Annähernd die Hälfte davon entfiel auf die Mittelgruppe der Herbizide, darauf folgten mit einem Anteil von knapp einem Drittel die Fungizide. Die verbleibende Menge verteilte sich zum einen auf Insektizide, zum anderen auf sonstige Wirkstoffe sowie Wachstumsregulatoren.

Dem Nutzen des Pflanzenschutzmitteleinsatzes in der Landwirtschaft steht stets eine Beeinträchtigung von Ökosystemen gegenüber. Es handelt sich bei diesen Substanzen um Umweltchemikalien, die jedoch im Unterschied zu anderen anthropogenen Belastungen gezielt und großflächig in die Umwelt ausgebracht werden. Von besonderem Interesse sind in diesem Zusammenhang die Aspekte des Boden- und des Grundwasserschutzes. Wegen seiner Bedeutung für die Trinkwasserversorgung geriet zunächst das Grundwasser in das Blickfeld entsprechender Betrachtungen. Nachdem zuvor eine Verlagerung von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen in das Grundwasser lange als unwahrscheinlich angesehen worden war, wurden Ende der 70er Jahre in den USA erstmals Wirkstoffe wie etwa das Insektizid Aldicarb in Grundwasserleitern nachgewiesen (COHEN *et al.*, 1984). Ein daraufhin in vielen Ländern verstärkt durchgeführtes Grundwassermonitoring zeigte, daß wiederholt auch andere Substanzen wie beispielsweise die Triazin-Herbizide Atrazin und Simazin in grundwasserführende Schichten verlagert worden waren (NORDMEYER, 1988). In Europa mündeten die Diskussionen über die daraus resultierende Trinkwassergefährdung schließlich in die Festlegung eines EU-weiten Trinkwassergrenzwerts für Pflanzenschutzmittel auf der Basis des Vorsorgeprinzips von

0,1 µg L⁻¹ für den einzelnen Wirkstoff und 0,5 µg L⁻¹ für die Summe aller Wirkstoffe.

Deutlich komplexer stellt sich die Problematik im Umweltkompartiment Boden dar. Obwohl jener gleichsam die Haut des Planeten Erde bildet und die direkte oder mittelbare Grundlage für die Existenz von Lebewesen darstellt (ZIECHMANN und MÜLLER-WEGENER, 1990), wurde dem Einfluß anthropogener Bodenbelastungen über lange Zeit nur eine geringe Aufmerksamkeit zuteil. „Boden“ ist ein heterogenes System aus anorganischer und organischer Materie, durchsetzt mit Wasser, Luft und Lebewesen, wobei all diese Bestandteile in vielfältigen Wechselbeziehungen miteinander stehen. Dies ist die Grundlage für die Funktion des Bodens unter anderem als Standort für die Nutzpflanzenproduktion und als Schadstoffpuffer und -senke. Maßnahmen zur Sicherung dieser Funktionen müssen der Komplexität des Systems Rechnung tragen. Diese Erkenntnisse fanden letztlich im Bodenschutzgesetz von 1997 (BodSchG) ihren gesetzgeberischen Niederschlag. Bereits vorher wurde bei der 1986 vorgenommenen Novellierung des Pflanzenschutzgesetzes die Zielvorgabe berücksichtigt, bei bestimmungsgemäßen Einsatz von Pflanzenschutzmitteln eine Beeinträchtigung des Naturhaushaltes ausschließen zu können. Entsprechend sind bei der Antragstellung für die Zulassung eines Wirkstoffs umfangreiche Informationen über sein Verhalten im Boden vorzulegen (BBA, 1992), so daß Substanzen mit einer zu hohen Persistenz oder einer zu starken Verlagerungstendenz nicht mehr zugelassen werden können. Ein Ansatz zur Verringerung der Bodenbelastung durch Pflanzenschutzmittel ist das Konzept des integrierten Pflanzenschutzes. Im Gegensatz zum ökologischen Landbau, der vollständig auf chemischen Pflanzenschutz verzichtet und damit auch eine veränderte Produktionsweise bedingt, betrachtet der integrierte Pflanzenschutz chemische Mittel als Ergänzung zu den vorrangig zu berücksichtigenden Methoden biologischer, biotechnischer, pflanzenzüchterischer, anbau- und kulturtechnischer Maßnahmen (BURTH *et al.*, 1994). Die zwischen 1991 und 1995 in der überwiegenden Mehrzahl der EU-Länder verzeichnete Abnahme des Pflanzenschutzmittel-Einsatzes um bis zu 40 % (ANONYM, 1998) kann sowohl auf eine vermehrte Einhaltung der entsprechenden Prinzipien als auch auf die Einführung neuer Wirkstoffe mit verringerten Aufwandmengen zurückgeführt werden. Allerdings muß in Risikobetrachtungen auch die höhere biologische Wirksamkeit dieser Stoffe einbezogen werden. Weiterhin ist in diesem Zusammenhang zu berücksichtigen, daß der Einsatz kleinerer Substanzmengen entsprechend höhere Anforderungen an die für Kontrolluntersuchungen notwendige Analytik stellt.

**Abbildung 1.1**

Das Verhalten von Pflanzenschutzmitteln in der Umwelt (KREUZIG, 1994)

Die Reaktions- und Transportpfade eines Pflanzenschutzmittels nach der Applikation sind in Abbildung 1.1 dargestellt. Dieses Schema verdeutlicht nochmals die zentrale Rolle des Bodens für das Schicksal von Pflanzenschutzmitteln in der Umwelt. Die gesellschaftliche Akzeptanz des chemischen Pflanzenschutzes gründet vor allem auf der Voraussetzung, daß die verwendeten Substanzen weder in den landwirtschaftlichen Produkten noch im Trinkwasser zu finden sind und im Boden nicht akkumuliert, sondern abgebaut werden. Bezogen auf die im Schema aufgeführten Prozesse können somit bestimmte Anforderungen an das Verhalten von Pflanzenschutzmitteln gestellt werden. Bis zum Eintreten des gewünschten bioziden Effekts sollten die Substanzen möglichst stabil sein, um eine überflüssige Belastung der Umwelt mit Chemikalien zu vermeiden. Anschließend sollte ein möglichst schneller und vollständiger Abbau erfolgen, wobei auch die Persistenz und Toxizität der dabei gebildeten Metabolite oder Abbauprodukte von Bedeutung ist. Eine starke Sorption von Wirkstoffen an die Bodenmatrix wirkt einer Verlagerung in das Grundwasser entgegen, kann sich jedoch auch nachteilig auf die Abbaugeschwindigkeit auswirken. Bei einer starken Festlegung einer Substanz ist zu berücksichtigen, ob und unter welchen Umständen eine Remobilisierung erfolgen kann. Da sich die vorliegende Arbeit mit dem Pflanzenschutzmittelabbau befaßt, sollen im Folgenden speziell dessen Aspekte angesprochen werden, ohne auf die übrigen im Schema enthaltenen Vorgänge weiter einzugehen.

1.2 Mikrobieller und chemischer Abbau von Pflanzenschutzmitteln

Pflanzenschutzmittel, die den Boden erreichen, unterliegen dort einer Reihe von Prozessen, die zu einem Um- und Abbau der Wirkstoffmoleküle führen. Wegen seiner zentralen Bedeutung für das Umweltverhalten von Pflanzenschutzmitteln ist dieser Bereich seit längerem Gegenstand intensiver Forschung. Dies äußert sich auch im regelmäßigen Erscheinen umfangreicher Übersichtsartikel, von denen hier beispielhaft die Publikationen von BEWICK (1994) und ANDREUX *et al.* (1995) genannt werden sollen. Eine wesentliche Rolle bei der Umwandlung von Pflanzenschutzmitteln im Boden spielt der biotische Abbau durch die Bodenmikroflora (BOLLAG und LIU, 1990). Dieser kann sowohl innerhalb der Zellen als auch durch extrazelluläre Enzyme erfolgen. Von der Vielzahl der Bodenmikroorganismen ist üblicherweise nur ein kleiner Anteil („competent microflora“) am Abbau von Pflanzenschutzmitteln beteiligt, so daß zwischen der Gesamtbiomasse

eines Bodens und der Abnahmerate eines Wirkstoffs nicht notwendigerweise eine direkte Korrelation besteht. Weiterhin ist beim biotischen Pflanzenschutzmittelabbau zwischen einer Metabolisierung des Wirkstoffs durch adaptierte Mikroorganismen (VASILYEVA *et al.*, 1992) und einem cometabolischen Abbau durch nicht entsprechend spezialisierte Anteile der Mikroflora zu unterscheiden. Im ersten Fall werden die Substanzen von den Organismen als Energie- und Kohlenstoffquelle genutzt, wofür eine Anpassung geeigneter Enzymsysteme notwendig ist. Dies äußert sich in Verlaufskurven, bei denen die Substanzkonzentrationen im Boden nach der Applikation eine gewisse Zeit („lag-phase“) konstant bleiben, bevor ein Rückgang nach einer Kinetik erster oder höherer Ordnung folgt. Abnahmekurven ohne solche „lag-phase“ deuten hingegen auf cometabolische Prozesse hin, bei denen die Pflanzenschutzmittelwirkstoffe im Zuge von weniger spezifischen enzymatischen Reaktionen umgesetzt werden, ohne daß aus der Umwandlung Energie oder Kohlenstoff bezogen wird. Eine zweite Möglichkeit für das Wegfallen einer „lag-phase“ besteht darin, daß ein Abbau durch spezialisierte Mikroorganismen erfolgt, deren Adaptation auf frühere Applikationen des entsprechenden Wirkstoffs am gleichen Standort zurückzuführen ist. Infolge dieses Phänomens der „enhanced degradation“ kann es in ungünstigen Fällen zu einem schnellen Abbau von ausgebrachten Pflanzenschutzmitteln noch vor Erreichen der gewünschten Wirkung kommen (FELSOT und SHELTON, 1993).

Der biotische Abbau von Pflanzenschutzmitteln wird durch unterschiedliche Faktoren sowohl direkt als auch indirekt beeinflusst. Von großer Bedeutung ist dabei vor allem die mikrobielle Aktivität der vorhandenen Bodenbiomasse. BECK (1984) schlug zur mikrobiologischen und biochemischen Charakterisierung von Böden eine „Bodenmikrobiologische Kennzahl“ vor, in deren Berechnung sowohl die gesamte Biomasse als auch die Aktivitäten von insgesamt fünf Hydrolasen und Reduktasen eingehen. Als einfach zu ermittelnde Kenngrößen können allerdings auch schon die Aktivitäten einzelner Enzyme wie zum Beispiel der Dehydrogenasen herangezogen werden. Bodeneigenschaften üben insofern einen Einfluß auf den biotischen Pflanzenschutzmittelabbau aus, als daß sie zum einen Auswirkungen auf Anzahl und Aktivität der Bodenmikroorganismen haben; bedeutsam sind hierbei der pH-Wert sowie die Gehalte an organischem Kohlenstoff und Wasser. Zum anderen können Wirkstoffmoleküle an Bodenbestandteilen sorbiert oder in Nanoporen von Huminstoffen oder Tonmineralien eingelagert werden, wodurch sie einem mikrobiellen Abbau entweder zwischenzeitlich oder sogar auf Dauer nicht mehr zugänglich sind (SCOW, 1993; HATZINGER und ALEXANDER, 1997).

Ein Abbau von Pflanzenschutzmitteln im Boden erfolgt nicht nur auf biotischem, sondern auch auf abiotischem Weg. Typische Reaktionen in durchlüfteten Oberböden sind dabei vornehmlich Oxidationen und Hydrolysen. Eine ausführliche Diskussion der Zusammenhänge zwischen Bodeneigenschaften und abiotischen Substanztransformationen findet sich im Übersichtsartikel von WOLFE *et al.* (1990). So übt etwa der pH-Wert eines Bodens einen starken Einfluß auf hydrolytische Prozesse aus. Redoxreaktionen sind abhängig vom Redoxpotential des Bodens, in vielen Fällen werden sie durch die Oberflächen von Tonmineralien oder Metalloxiden katalysiert.

Aus dem landwirtschaftlichen Blickwinkel wird vom „Abbau“ eines Pflanzenschutzmittelwirkstoffes dann gesprochen, wenn die Substanz in ihrer chemischen Struktur so verändert wird, daß die erwünschten Eigenschaften des ursprünglichen Wirkstoffs verloren gehen. Dabei bleiben jedoch die Eigenschaften der gebildeten Abbauprodukte oder Metabolite unberücksichtigt, obwohl jene in manchen Fällen durchaus ein höheres toxikologisches oder ökotoxikologisches Potential aufweisen können als die Ausgangsverbindung. Unter Gesichtspunkten sind für die Beurteilung des Verhaltens eines Wirkstoffs im Boden daher auch Informationen über Struktur und Eigenschaften der gebildeten Metabolite erforderlich (FRITZ und SPITELLER, 1993). Um solche Daten zu ermitteln, wird bei Abbaustudien im Labor oder in Lysimetern die Radiotracer-technik eingesetzt. Diese Technik ermöglicht einerseits eine Aufklärung von unbekannten Abbau- und Metabolismusvorgängen und andererseits eine sehr empfindliche Bestimmung bereits bekannter Abbauprodukte (DORN, 1984). In geschlossenen Systemen können zusätzlich über die Gesamtbilanz die Wirkstoffverluste durch Verflüchtigung, Festlegung an Bodenbestandteilen und Mineralisation ermittelt werden. Neben den Ergebnissen aus Labor- und Lysimeterexperimenten sind für die Bewertung der Rückstandsdynamik eines Pflanzenschutzmittels im Boden darüber hinaus auch Daten aus Feldversuchen unter praxisüblichen Bedingungen notwendig. Im Rahmen des DFG-Sonderforschungsbereiches 179 „Wasser- und Stoffdynamik in Agrarökosystemen“ befaßte sich das Teilprojekt A15 mit der in diesem Zusammenhang erforderlichen Entwicklung von sensitiven Nachweismethoden für die Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln und korrespondierenden Metaboliten in Labor- und Feldversuchen.

1.3 Photochemische Reaktionen von Pflanzenschutzmitteln

Nach der Applikation befinden sich Pflanzenschutzmittel, von speziellen Anwendungsformen wie etwa der Saatgutbeizung abgesehen, üblicherweise an der Oberfläche der Pflanzen oder des Bodens und sind somit dem Einfluß des Sonnenlichts ausgesetzt. Zu unterscheiden sind in diesem Zusammenhang direkte Photoreaktionen der Substanz in Lösung, direkte Photoreaktionen der an Oberflächen sorbierten Substanz sowie indirekte Reaktionen der gelösten oder der adsorbierten Substanz, die auf den Einfluß zusätzlicher Parameter zurückzuführen sind. Im Rahmen des Zulassungsverfahrens sind davon neben der direkten Photolyse in der Gasphase nur die direkten Photoreaktionen des gelösten Wirkstoffs von Belang (BBA, 1992). Weitere Photoreaktionen können bei Wechselwirkungen von Wirkstoffmolekülen mit aktiven Oberflächen stattfinden, indem Umwandlungsreaktionen angeregter Moleküle katalysiert werden oder die Absorptionscharakteristik der Substanz durch die Adsorption beeinflußt wird (PARLAR, 1990). Natürliche Wässer und erst recht Bodenlösungen enthalten stets einen mehr oder weniger großen Anteil gelöster Huminstoffe. Diese sind photochemisch aktiv, und ihre Bestrahlung führt zur Entstehung unterschiedlicher reaktiver Spezies, die in Sekundärprozessen mit anderen gelösten Bestandteilen reagieren können. Das Spektrum dieser reaktiven Spezies erstreckt sich von hydratisierten Elektronen, Superoxid, Singulett-Sauerstoff, Organoperoxy- und Hydroxyl-Radikalen über Wasserstoffperoxid bis hin zu angeregten Huminstoffmolekülen (COOPER *et al.*, 1989). Informationen zu ihrer Entstehung und Lebensdauer sowie zu ihren spezifischen Reaktionen sind im Reviewartikel von HOIGNÉ *et al.* (1989) zusammengestellt. Die durch solche reaktiven Spezies bewirkten indirekten Photoreaktionen sowohl in Lösung (MANSOUR und KORTE, 1986; MANSOUR *et al.*, 1997) als auch auf speziell präparierten Bodenoberflächen (KLEHR *et al.*, 1983; PARKER und LEAHEY, 1988; MILLER *et al.*, 1989) wurden bereits für eine Anzahl verschiedener Wirkstoffe untersucht. Dabei wurde allerdings stets unter sterilen Bedingungen gearbeitet. Untersuchungen, bei denen auch der Einfluß einer aktiven Bodenmikroflora auf photochemische Reaktionen berücksichtigt wurde, wurden erst in der jüngsten Vergangenheit publiziert (MISRA *et al.*, 1997; SAHA und SUKUL, 1997; ROMERO *et al.*, 1998).

1.4 Bildung und Bedeutung nichtextrahierbarer Rückstände

Nach der Definition der IUPAC handelt es sich bei nichtextrahierbaren Rückständen um „chemische Spezies, die von Pflanzenschutzmitteln herrühren, welche nach guter landwirtschaftlicher Praxis angewendet wurden, und die mit Methoden, die die chemische Natur dieser Rückstände nicht signifikant verändern, nicht extrahiert werden können“ (ROBERTS *et al.*, 1984). Somit wird der Anteil derartig fixierter Substanzen nicht nur von den Eigenschaften von Wirkstoff und Boden, sondern auch von der eingesetzten Extraktionsmethode bestimmt (AGNIHOTRI und BAROOAH, 1994). Zum Nachweis nichtextrahierbarer Rückstände wird die Radiotracer-technik eingesetzt. Eine quantitative Bestimmung ist durch Verbrennung der extrahierten Bodenmatrix und Auffangen des dabei freigesetzten $^{14}\text{CO}_2$ möglich. Allerdings liefert diese Methode keine Informationen zur Art der Bindung der Substanzen an die Bodenmatrix. Als zugrundeliegende Bildungsmechanismen werden die Einlagerung in Schichtgitter von Tonmineralien oder Hohlräume von Huminstoff-Makromolekülen, Wasserstoffbrückenbindungen, van-der-Waals-Wechselwirkungen und kovalente Bindungen an Huminstoffvorläufer angesehen (BAHADIR *et al.*, 1992). Manche Autoren differenzieren deutlich zwischen lediglich physikalisch in der Bodenmatrix eingeschlossenen „gealterten“ und chemisch „gebundenen“ Rückständen (CHUNG und ALEXANDER, 1998). Die Bindung der Substanzen kann dadurch verstärkt werden, daß verschiedene Wechselwirkungstypen gleichzeitig wirksam sind (LERCH *et al.*, 1997). Es können entweder das unveränderte Wirkstoffmolekül oder aber seine Abbauprodukte bzw. Metabolite im Boden fixiert werden. Da letztere im allgemeinen polarer sind und reaktive funktionale Gruppen enthalten, sind sie den entsprechenden Prozessen, insbesondere der Ausbildung kovalenter Bindungen, besser zugänglich (VÖLKELE *et al.*, 1994).

Zur näheren Charakterisierung nichtextrahierbarer Rückstände kann die ^{13}C -NMR-Spektroskopie herangezogen werden, indem ^{13}C -markierte Pflanzenschutzmittelwirkstoffe in Böden mit ^{13}C -abgereichertem Stroh als Huminstoffvorläufer inkubiert werden (WAIS *et al.*, 1995). Auf diese Weise läßt sich bestimmen, welcher Bindungstyp zwischen Wirkstoffmolekül und Bodenmatrix vorliegt. Die Silylierung der gesamten Bodenmatrix ist eine Methode, bei der die makromolekularen Huminstoffe in kleinere Bestandteile aufgespalten werden, und durch die auch kovalent gebundene Rückstände in Lösung gebracht werden (HAIDER *et al.*, 1992). Schließlich wird auch über eine analytische Freisetzung festgelegter Substanzen mittels superkritischer Fluidextraktion berichtet (KHAN,

1995; CELI *et al.*, 1997), wobei offen bleibt, ob dies mit einer Spaltung chemischer Bindungen verbunden ist.

Je nach Art der Festlegung ist die Bildung nichtextrahierbarer Rückstände vom Umweltgesichtspunkt aus unterschiedlich zu beurteilen. Zunächst einmal wird dadurch in allen Fällen eine deutliche Absenkung der Bioverfügbarkeit bewirkt (FÜHR, 1987; ALEXANDER, 1995). Eine Fixierung an die Bodenmatrix über chemische Bindungen kann praktisch einer Detoxifikation gleichkommen, sofern die Substanzen tatsächlich irreversibel in die Huminstoffstruktur eingebaut werden. Andererseits kann eine Festlegung auch mit einer länger andauernden Bodenbelastung gleichbedeutend sein, wenn im weiteren Zeitverlauf infolge mikrobieller Aktivität oder aufgrund physikochemischer Faktoren eine Remobilisierung von Rückständen stattfindet (HAYAR *et al.*, 1997). Insofern können fixierte Pflanzenschutzmittelwirkstoffe, die infolge der Abschirmung durch die Bodenmatrix für biotische Abbaureaktionen nicht zugänglich sind, ein Reservoir bilden, dessen spätere unkontrollierte Entleerung unter Umständen zu Problemen führt. Jedoch wurden auch an festgelegten Substanzrückständen Abbaureaktionen beobachtet (SCHEUNERT *et al.*, 1986), die einer solchen Akkumulation entgegenwirken.

1.5 Analytik von Prochloraz

1.5.1 Bestimmung mittels Gaschromatographie (GC)

In Handbüchern und Datensammlungen zu Pflanzenschutzmitteleigenschaften wird Prochloraz als thermolabile Substanz charakterisiert, die bei längerem Erhitzen über 200 °C zerfällt (PERKOW, 1994; TOMLIN, 1994). Dennoch werden in der Literatur verschiedene Methoden zum gaschromatographischen Nachweis dieses Wirkstoffes angegeben. Angefangen von Einzeluntersuchungen auf gepackten Säulen mit Elektroneneinfangdetektor (SOMERVILLE, 1980; MACLAINE PONT *et al.*, 1980) erstreckt sich das Spektrum bis hin zu Multimethoden unter Verwendung von Kapillarsäulen und massenspektrometrischer Detektion (GELSOMINO *et al.*, 1997). LAFUENTE und TADEO (1985) geben für die Bestimmung von Prochloraz in Zitrusfrüchten bei Verwendung des Elektroneneinfangdetektors (ECD) eine Nachweisgrenze von 20 µg kg⁻¹ an, die sie bei Detektion durch einen Stickstoff/Phosphor-selektiven Detektor (NPD) auf 10 µg kg⁻¹ absenken konnten (LAFUENTE und TADEO, 1987). HOLLAND *et al.* (1994)

analysierten Extrakte aus Wein mit simultaner Detektion über ECD und NPD, wobei sie für Prochloraz eine Nachweisgrenze von $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ermittelten. Die simultane Detektion über ECD und NPD nach der gaschromatographischen Trennung über zwei unterschiedliche Kapillarsäulen kam auch in der Multimethode von BERNAL *et al.* (1992) zum Einsatz. Eine Nachweisgrenze für Prochloraz wurde jedoch nur für die ECD-Detektion mit $2 \mu\text{g L}^{-1}$ angegeben. SILTANEN *et al.* (1989) verweisen für den Nachweis sowohl von Prochloraz als auch seiner Metabolite Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff auf die DFG-Multimethode S19 (DFG, 1991). Für die Analytik von Prochloraz-Rückständen in Boden wurden von GOTTESBÜREN *et al.* (1992) zwei verschiedene GC-Systeme mit Detektion über ECD bzw. NPD eingesetzt. Als Bestimmungsgrenze wurden hier $4 \mu\text{g kg}^{-1}$ trockener Boden ermittelt.

Andererseits ermittelten BRODESSER *et al.* (1990) trotz Einsatzes der On column-Injektion und eines für thermolabile Phenylharnstoffe optimierten Temperaturprogrammes für Prochloraz Wiederfindungsraten von lediglich 40-55 %. Auch bei den Untersuchungen von LEGRAND *et al.* (1991) mittels GC/MS lag die Wiederfindungsrate unter 50 %, was gegebenenfalls als Hinweis auf GC-bedingte Substanzverluste aufgefaßt werden kann. BAUMANN *et al.* (1991) klassifizierten den Wirkstoff im Rahmen der Entwicklung einer Multimethode ausdrücklich als nicht direkt GC-analysierbar.

Eine Methode für den Nachweis von Prochloraz und seinen Metaboliten Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff wurde von DE PAOLI *et al.* (1997) angegeben. Nach Hydrolyse mit Pyridin-Hydrochlorid bei 220°C erfolgt die simultane Bestimmung aller drei Substanzen als 2,4,6-Trichlorphenol. Dieser Ansatz verdeutlicht nochmals die limitierte Stabilität der drei Analyte.

1.5.2 Bestimmung mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Vor dem Hintergrund, daß bei der HPLC das Problem der thermischen Stabilität der Analyte nicht von Bedeutung ist, wurde auch diese Methode wiederholt für den Nachweis von Prochloraz herangezogen. ALONSO-ALLENDE (1981) analysierte den Wirkstoff in Wein mit Hilfe verschiedener Normalphasen- und Reversed-Phase-Systeme. Prochloraz-Rückstände in Zitrusfrüchten wurden von LAFUENTE und TADEO (1984) auf einer RP18-Säule mit einem Gemisch aus Methanol und 0,25 %iger Ammoniaklösung als Fließmittel und einer Detektionswellenlänge des UV-Detektors von $\lambda = 204 \text{ nm}$ bestimmt. Die Nachweisgrenze dieser Methode wurde mit $40 \mu\text{g kg}^{-1}$ angegeben (LAFUENTE und TADEO, 1985). Eine große

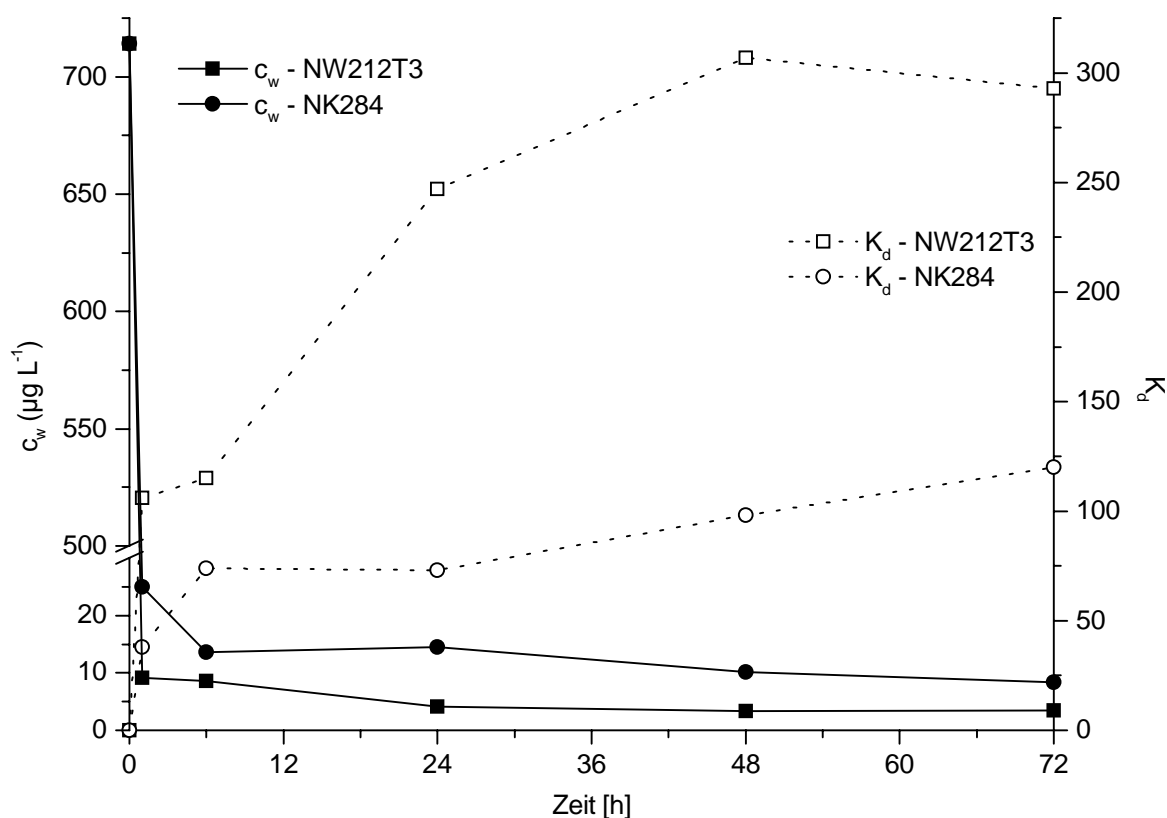
Bedeutung haben HPLC-Methoden in der Wasseranalytik im Zusammenhang mit dem EU-Grenzwert von $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ für Pflanzenschutzmittelrückstände in Trinkwasser erlangt. Von SCHMID (1988) und SCHLETT (1991) wurden Multimethoden unter Verwendung von RP18-Säulen und Diodenarraydetektor vorgestellt, wobei jeweils auch Prochloraz mit erfaßt wurde. Neueren Datums ist der Einsatz der HPLC/MS-Kopplung in diesem Bereich (VOLMER *et al.*, 1994).

1.6 Sorptionseigenschaften von Prochloraz und Metaboliten

Die Sorption von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen an Bodenbestandteilen ist für deren Umweltverhalten in zweierlei Hinsicht bedeutsam. Einerseits ist sie der entscheidende Parameter für die Verlagerung einer Substanz in Richtung Grundwasser, andererseits determiniert sie auch deren Verfügbarkeit für einen mikrobiellen Abbau im Boden. Die Kombination von Abbau- und Sorptionsdaten ermöglicht eine einfache Abschätzung der Verlagerungsneigung von Pflanzenschutzmitteln (COHEN *et al.*, 1984; GUSTAFSON, 1989). Aufgrund dieser grundlegenden Bedeutung existiert mittlerweile eine unüberschaubare Anzahl von Studien zur Sorption von Pflanzenschutzmitteln in der ungesättigten Bodenzone. Beispielhaft sei hier auf die Übersichtsartikel von WEBER *et al.* (1993), BEWICK (1994), CALVET und BARRIUSO (1994) sowie SENESI und MIANO (1995) verwiesen. Das Sorptionsverhalten von Prochloraz wurde im Rahmen des Teilprojekts A15 im SFB 179 erforscht und gesondert publiziert (RÜTTERS *et al.*, 1998). Aufgrund des engen Zusammenhangs jener Studie mit der vorliegenden Arbeit sollen die entsprechenden Ansätze und Ergebnisse an dieser Stelle zusammenfassend dargestellt werden.

Die Experimente zur Sorption von Prochloraz wurden mit Hilfe der Radiotracertechnik durchgeführt. Bedingt durch die hohe Empfindlichkeit der Radioaktivitätsmessung konnten bereits sehr kleine Gehalte von Prochloraz in wäßrigen Phasen nachgewiesen werden. Dadurch war es möglich, den Wirkstoff in solchen Konzentrationen einzusetzen, wie sie der praxisüblichen Aufwandmenge entsprechen.

In den Untersuchungen wurden zunächst zwei unterschiedliche Methoden zur Ermittlung von Verteilungskoeffizienten (K_d -Werten) miteinander verglichen. Der Ansatz von STALDER und PESTEMER (1980) orientiert sich an der Pflanzenverfügbarkeit von Wirkstoffen im Boden, und der ermittelte K_d -Wert umfaßt sowohl Ad- als auch Desorptionsvorgänge. Im Gegensatz dazu werden bei der

**Abbildung 1.2**

Konzentrationen in der wässrigen Phase (c_w) und Verteilungskoeffizienten (K_d) bei der Sorption von Prochloraz an einen tonigen Schluff (NK284) und einen schluffigen Sand (NW212T3; Charakterisierung der Böden siehe Kapitel 2.2)

OECD-Testmethode (OECD, 1981a) Ad- und Desorption getrennt voneinander in Suspension bestimmt. Die für die weiteren Versuche daraus abgeleitete Methode kombinierte die Herangehensweise des OECD-Ansatzes mit dem größeren, den realen Verhältnissen im Boden näherkommenden Boden/Wasser-Verhältnis der Methode von STALDER und PESTEMER.

Der zeitliche Verlauf der Sorption von Prochloraz an einen tonigen Schluff und einen schluffigen Sand (Charakterisierung der Böden siehe Kapitel 2.2) wies auf einen zweistufigen Sorptionsprozeß hin. An eine starke Sorption innerhalb der ersten Stunde schloß sich in der Folgezeit eine langsamere Aufnahme an, die im tonigen Schluff nach 48 h zu einem stationären Zustand führte, während ein solcher im schluffigen Sand auch nach 72 h noch nicht erreicht war (Abbildung 1.2). Dieser Verlauf kann durch eine schwache Bindung der Prochloraz-Moleküle an „äußere“ Sorptionsplätze im ersten und eine nachfolgende Diffusion zu

„inneren“ Sorptionsplätzen im zweiten Schritt erklärt werden (GILCHRIST *et al.*, 1993).

Für den Vergleich des Einflusses von Bodeneigenschaften und der Ausgangskonzentration auf die Sorption von Prochloraz wurde eine Sorptionsdauer von 24 h als Basis herangezogen, da die Einstellung eines thermodynamischen Gleichgewichtszustandes unter realen Bedingungen üblicherweise nicht zu erwarten ist (BECK *et al.*, 1996). Die Sorptionsisothermen konnten durch die Freundlich-Gleichung beschrieben werden. Im Bereich niedriger Konzentrationen ergaben sich lineare Isothermenverläufe, aus denen durch lineare Regression die K_d -Werte bestimmt werden konnten, während zu höheren Konzentrationen hin eine in Relation geringere Sorption zu beobachten war.

Eine Abhängigkeit der Prochloraz-Sorption vom Tongehalt des Bodens wurde nicht festgestellt. Hingegen wurde eine positive Korrelation zum C_{org} -Gehalt des Bodens ermittelt. Nach PAYÁ-PEREZ *et al.* (1992) wurde aus der linearen Regression einer Auftragung der K_d -Werte gegen den C_{org} -Gehalt ein normierter

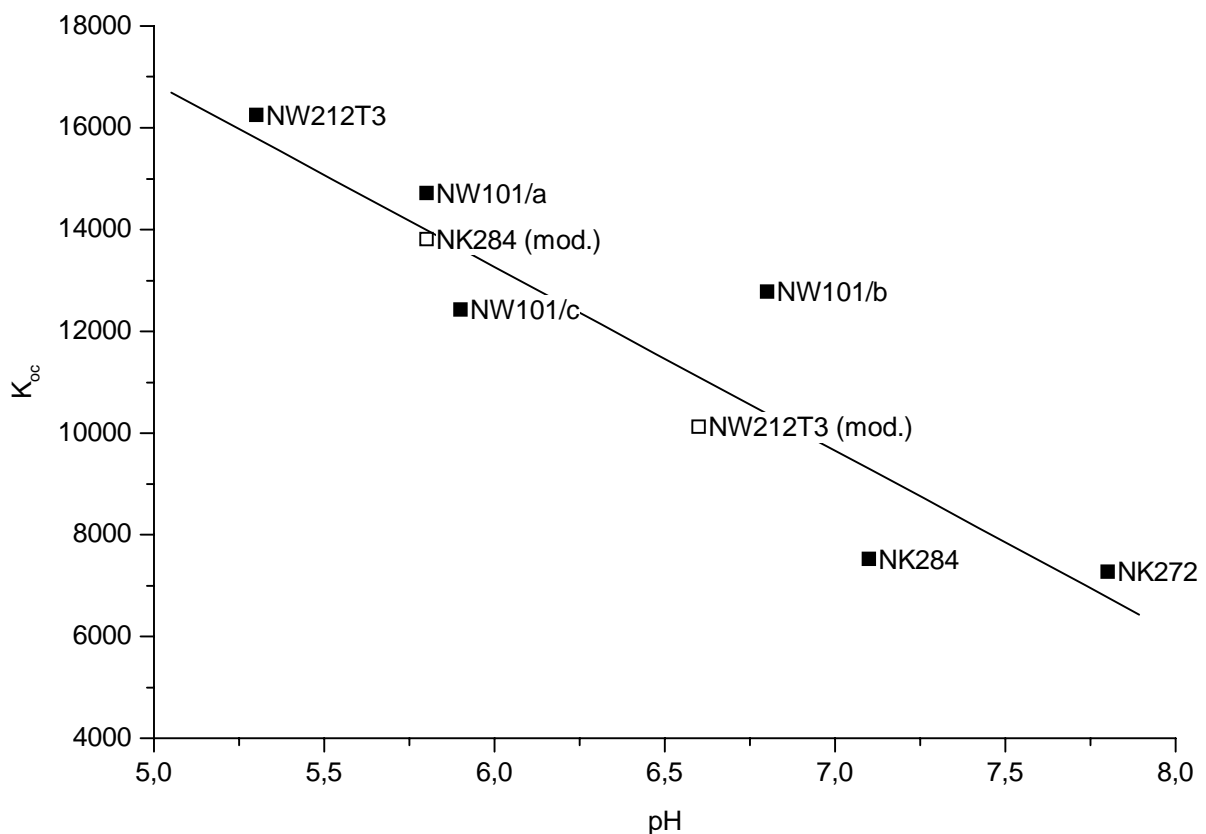


Abbildung 1.3

K_{oc} -Werte von Prochloraz bei Sorption an unterschiedliche, zum Teil pH-modifizierte Böden in Abhängigkeit vom pH-Wert (Charakterisierung der Böden siehe Kapitel 2.2)

Verteilungskoeffizient K_{oc} von 12900 ± 1300 ($r = 0,981$) berechnet. Weiterhin ergab sich eine signifikante Abhängigkeit der einzeln berechneten K_{oc} -Werte vom pH-Wert des Bodens. Die stärkere Sorption bei niedrigeren pH-Werten wurde auch durch entsprechende Messungen mit pH-modifizierten Böden bestätigt (Abbildung 1.3). Gedeutet werden kann dies einerseits mit einem größeren Anteil von protonierten Molekülen, die mit der Bodenmatrix zusätzlich über Kationenaustauschmechanismen in Wechselwirkung treten können (WEBER, 1982), andererseits mit einer pH-abhängigen Verringerung der Oberflächenladung von Huminstoffen, die deren Lipophilie verstärkt (WEBER *et al.*, 1986).

Zusätzlich zu Prochloraz wurde auch die Sorption der Metabolite Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff mit rückstandsanalytischen Methoden untersucht. Die K_d -Werte waren in beiden Fällen kleiner als bei Prochloraz. Bei Prochloraz-Harnstoff zeigte sich eine starke Abhängigkeit der Sorption vom C_{org} -Gehalt des Bodens, die bei Prochloraz-Formylharnstoff sehr viel geringer ausfiel. Dies kann als Hinweis auf unterschiedliche Sorptionsmechanismen aufgefaßt werden.

1.7 Zielsetzung

In der wissenschaftlichen Literatur finden sich zu Prochloraz zwar eine Reihe von Veröffentlichungen zur Analytik, bisher jedoch nur wenige Erkenntnisse zum Umweltverhalten dieses Azolfungizids. Nachdem zuvor Informationen zur Sorption des Wirkstoffs in der in Kapitel 1.6 beschriebenen Studie ermittelt worden waren (RÜTTERS *et al.*, 1998), galt es nun, das Abbauverhalten im Boden als zentralen Aspekt für den Verbleib von Prochloraz in der Umwelt zu untersuchen.

Es sollte zum einen geklärt werden, ob die bei Metabolismusstudien in Ratten (NEEDHAM und CHALLIS, 1991; LAIGNELET *et al.*, 1992) gefundenen Metabolite auch beim Abbau von Prochloraz in Böden gebildet werden. Als Voraussetzung war eine analytische Methode zu adaptieren, die einen simultanen Nachweis der Wirksubstanz Prochloraz und seiner Metabolite ermöglichen sollte. Bedeutsame Parameter waren hierbei sowohl eine möglichst hohe Selektivität und Sensitivität der Analysenmethode als auch die limitierte Stabilität der zu analysierenden Substanzen. Die Anwendbarkeit der Methode war durch Zusatzversuche abzusichern.

Die Rückstandsdynamik von Prochloraz nach praxisüblicher Applikation sollte in Feldversuchen erforscht werden. Durch die Einbeziehung zweier Standorte

mit jeweils unterschiedlichen Bodeneigenschaften sollte deren Einfluß auf den Abbau des Wirkstoffs und die Bildung von Metaboliten bestimmt werden. Die Experimente wurden in zweifacher Wiederholung in den Jahren 1995 und 1996 durchgeführt.

Anhand von Abbauxperimenten im Labor nach den BBA-Richtlinien für die Zulassung von Pflanzenschutzmitteln (SCHINKEL *et al.*, 1986) galt es zu ermitteln, inwieweit die unter diesen kontrollierten Bedingungen erhaltenen Ergebnisse mit denjenigen der Feldversuche in Beziehung gesetzt werden konnten. Der Einsatz radioaktiv markierten Wirkstoffs ermöglichte dabei eine detaillierte Bilanzierung, die auch Mineralisation und die Bildung nichtextrahierbarer Rückstände einschloß. Durch weitere Experimente mit unterschiedlichen Böden sollten zusätzliche Erkenntnisse über die Abhängigkeit des Prochloraz-Abbaus von Bodenparametern gewonnen werden. In diesem Zusammenhang waren auch Abbauxersuche mit sterilisierten bzw. mit Nährstoffen angereicherten Böden durchzuführen, um den Einfluß der mikrobiellen Bodenaktivität zu bestimmen.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen Feld- und Laborversuchen nach Maßgabe der Zulassungsrichtlinien besteht darin, daß letztere im Dunkeln durchgeführt werden. Der Einfluß von Licht auf die Rückstandsdynamik von Prochloraz sollte daher durch zusätzliche Laborabbauxersuche in einer speziell dafür konzipierten Bestrahlungsapparatur untersucht werden.

2 Charakterisierung des Wirkstoffes und der eingesetzten Böden

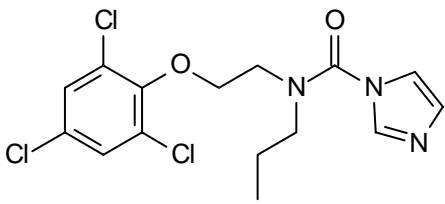
2.1 Der fungizide Wirkstoff Prochloraz

Der Wirkstoff Prochloraz wurde 1977 von The Boots Company Ltd. vorgestellt (BIRCHMORE *et al.*, 1977). Einige chemische und physikalische Daten dieser Substanz sind in Tabelle 2.1 zusammengestellt. Allein oder in Kombination mit anderen Wirkstoffen wird Prochloraz in einer empfohlenen Aufwandmenge von 400-600 g ha⁻¹ gegen Krankheitserreger des Getreides im Halmgrund-, Blatt- und Ährenbereich eingesetzt (PERKOW, 1994; TOMLIN, 1994), wobei eine Wirksamkeit sowohl bei einsetzender (kurativ) als auch bei voll etablierter Infektion (eradikativ) gegeben ist. Weitere Anwendungsbereiche sind die Saatgutbeizung (DISTLER, 1991) sowie pilzliche Erkrankungen anderer Feldfrüchte, wie etwa Raps, Rüben, Gemüse, Reis und Kaffee. Auch für den Schutz von Zitrusfrüchten während Lagerung und Transport ist Prochloraz geeignet (TOMLIN, 1994).

In der Bundesrepublik Deutschland unterliegen Daten zur Absatzmenge

Tabelle 2.1

Physikalische und chemische Daten des Azolfungizids Prochloraz (PERKOW, 1994)

Common Name	Prochloraz
IUPAC-Name	<i>N</i> -Propyl- <i>N</i> -[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl]imidazol-1-carboxamid
Summenformel	C ₁₅ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂
Strukturformel	
molare Masse	376,66 g mol ⁻¹
Schmelzbereich	46,5-49,3 °C
Siedebereich	208-218 °C bei 27 Pa (Zersetzung)
Dampfdruck	0,15 mPa bei 20 °C
Wasserlöslichkeit	34 mg L ⁻¹ bei 20 °C
Verteilungskoeffizient, log P _{OW}	4,38

einzelner Pflanzenschutzmittelwirkstoffe der Vertraulichkeit, so daß keine entsprechenden Angaben über die derzeitige Bedeutung von Prochloraz gemacht werden können. In der Summe belief sich die Menge der im Jahr 1995 in Deutschland abgesetzten Azolfungizide mit 1316 t auf 13,2 % der Gesamtmenge aller fungiziden Wirkstoffe (SCHMIDT, 1998). Nach Statistiken der dänischen Umweltbehörde (zitiert nach <http://inet.uni-c.dk/~iaotb/pesti.htm>) lag Prochloraz 1994 dort an achter Stelle aller verkauften Pflanzenschutzmittelwirkstoffe und an dritter Position bei den Azolfungiziden. Daraus läßt sich ableiten, daß dieser Wirkstoff auch in Deutschland in den 90er Jahren in relevantem Ausmaß insbesondere im Getreideanbau zum Einsatz gelangt sein dürfte.

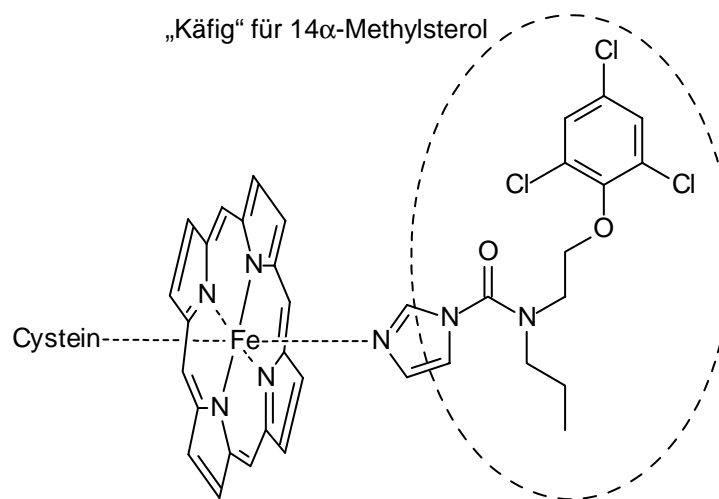


Abbildung 2.1

Blockierung des aktiven Zentrums von Cytochrom P₄₅₀ durch Prochloraz (nach BAILLIE, 1987 und HASSALL, 1990)

Wie bei allen Azolfungiziden beruht auch bei Prochloraz die fungizide Wirkung auf einer Hemmung der pilzlichen Biosynthese von Ergosterol. Diese Substanz ist eine wesentliche Komponente in der Membranstruktur der Pilzzellen (KATO, 1986). Geeignet substituierte Triazole und Imidazole können das für die 14 α -Demethylierung des Ergosterol-Vorläufers Lanosterol verantwortliche Enzym blockieren, wie es in Abbildung 2.1 für Prochloraz skizziert ist. Diese Wirkung basiert zum einen auf der T-förmigen Struktur des Moleküls, die die Kopplung an das Enzym ermöglicht, zum anderen auf dem freien N-Atom des Azolrings, das die Bindung mit dem aktiven Zentrum des Enzyms eingeht. Die fungizide Wirksamkeit hängt dabei wesentlich von den das „T“ bildenden Substituenten und der Natur des N-Heterocyclus ab (KAPTEYN *et al.*, 1992). Diese Parameter bestimmen auch die Selektivität der Substanz, die für Prochloraz schwerpunkt-

mäßig in der Wirkung gegen *Pseudocercospora*, *Pyrenophora*, *Rhynchosporium* und *Septoria* spp. liegt (COPPING *et al.*, 1984).

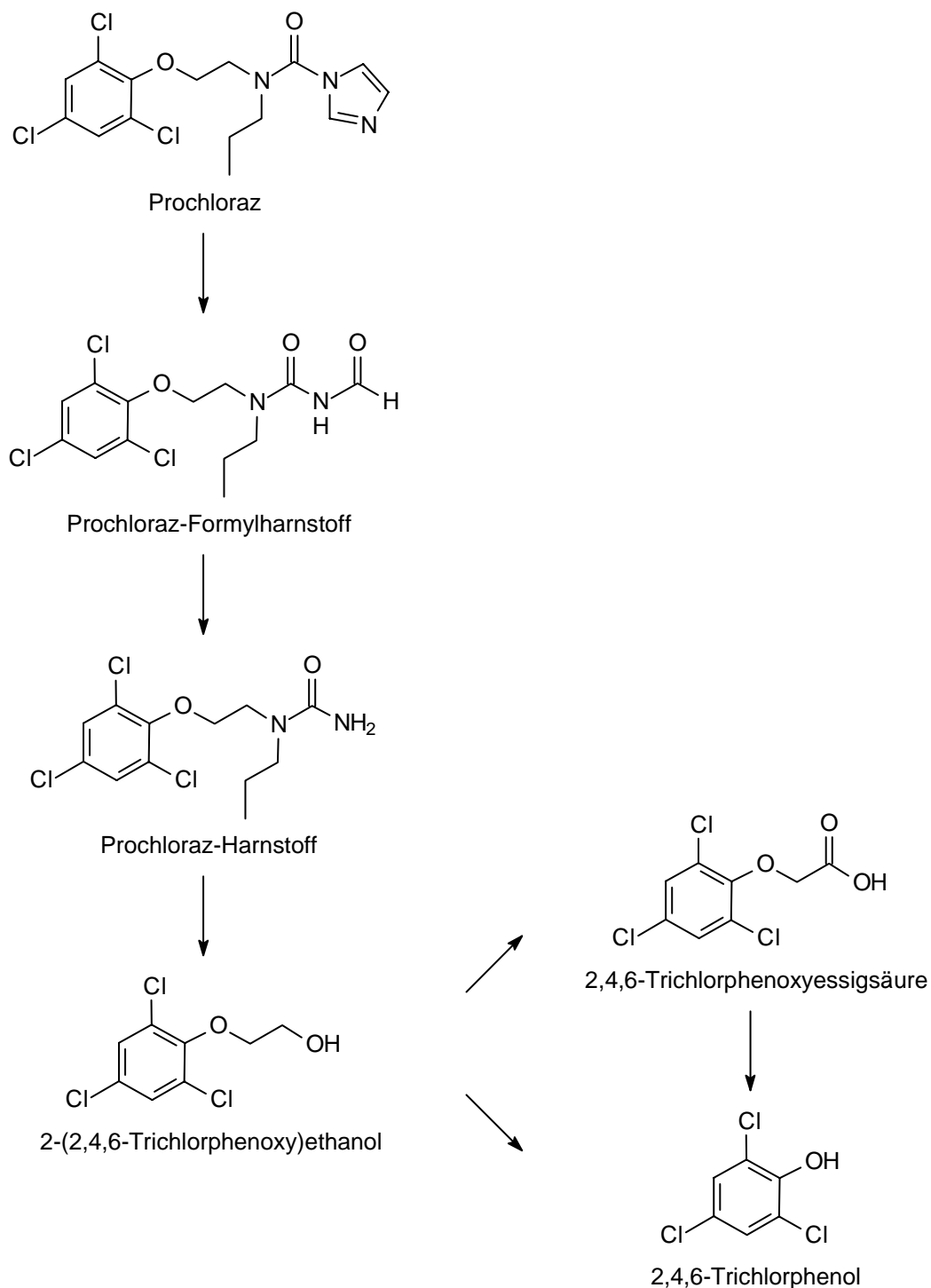


Abbildung 2.2

Hauptabbaupfad von Prochloraz in Ratten (NEEDHAM und CHALLIS, 1991; LAIGNELET *et al.*, 1992)

Der Abbau von Prochloraz im Säugetierorganismus wurde in den Studien von NEEDHAM und CHALLIS (1991) und von LAIGNELET *et al.* (1992) eingehend untersucht. Erster Schritt des Hauptabbaupfades (Abbildung 2.2) ist eine Reaktion am Imidazolring, bei der Prochloraz-Formylharnstoff (*N'*-Formyl-*N*-propyl-*N*-[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl]harnstoff) als kurzlebiges Intermediat entsteht. Dieser primäre Metabolit unterliegt einer raschen Hydrolyse zu Prochloraz-Harnstoff (*N*-propyl-*N*-[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl]harnstoff). Der weitere Abbau verläuft zunächst unter Verlust der Harnstoff-Funktion zum 2-(2,4,6-Trichlorphenoxy)ethanol und danach entweder direkt oder über die 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure zum 2,4,6-Trichlorphenol. In geringem Ausmaß wurden auch Metabolite gefunden, die durch Hydroxylierung des aromatischen Ringes gebildet worden waren.

DISTLER (1991) fand bei Versuchen an Kulturen von *Cladosporium cucumerinum* keinerlei fungizide Aktivität der Metabolite Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff und bestätigte damit nochmals die in dieser Beziehung entscheidende Funktion des Imidazolrings. Für einen Vergleich des toxiologischen Potentials der beiden Metabolite mit demjenigen von Prochloraz wurden am Institut für Ökologische Chemie und Abfallanalytik der TU Braunschweig Leuchtbakterientests (MICROTOX®) durchgeführt. Die Ergebnisse sind mit zusätzlichen Literaturdaten zum Wirkstoff Prochloraz in Tabelle 2.2 zusammengestellt.

Tabelle 2.2

Toxikologische und ökotoxikologische Daten zu Prochloraz (PCZ) und seinen Metaboliten Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH) und Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H)

	Leuchtbakterientest MICROTOX®	tabellierte Daten (TOMLIN, 1994)
PCZ	EC ₅₀ 40,4 mg L ⁻¹ (Suspension in Wasser, 100 mg L ⁻¹ , Messung gegen entsprechende Kontrolle)	LD ₅₀ (oral, Ratte) 1600 mg kg ⁻¹ LD ₅₀ (oral, Stockente) 3132 mg kg ⁻¹ LC ₅₀ (96 h, Forelle) 1 mg L ⁻¹ EC ₅₀ (48 h, Daphnien) 4,3 mg L ⁻¹ nicht toxisch für Bienen und Nutzinsekten
PCZ-FH	EC ₅₀ 57,3 mg L ⁻¹ (Suspension in 1% MeOH, 100 mg L ⁻¹ , Messung gegen entsprechende Kontrolle)	(keine Literaturangaben verfügbar)
PCZ-H	EC ₅₀ 22,8 mg L ⁻¹ (Lösung in 1% DMSO, 100 mg L ⁻¹ , Messung gegen entsprechende Kontrolle)	(keine Literaturangaben verfügbar)

2.2 Die Böden der Untersuchungsstandorte

2.2.1 Neuenkirchen

Das Untersuchungsgebiet Neuenkirchen (Abbildung 2.3) befindet sich im Harzvorland etwa 35 km südlich von Braunschweig. Die dortigen Böden sind aus verschiedenen Lößsubstraten aufgebaut (OTHMER, 1993). In die Untersuchungen wurden zwei der dort nebeneinander auftretenden Bodentypen einbezogen.

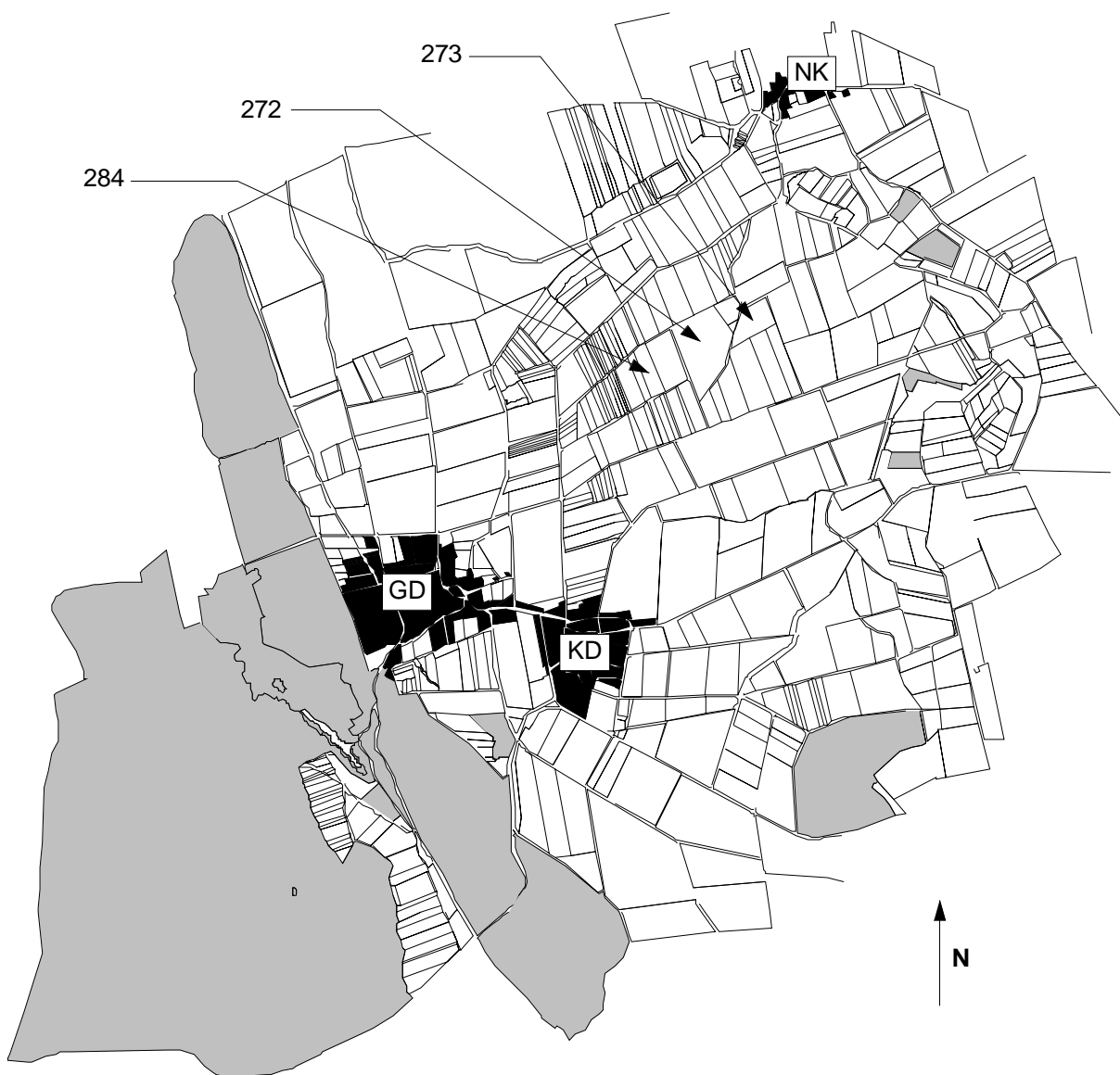


Abbildung 2.3

Schlagkarte des SFB-Standorts Neuenkirchen (NK)

(GD: Groß Döhren; KD: Klein Döhren)

Bei dem im folgenden nach dem Entnahmeort als NK284 bezeichneten Boden handelt es sich um einen Schwemmlöß aus der Weichseleiszeit, der nach seiner Textur als toniger Schluff anzusprechen ist. Aufgrund seiner bodenphysikalischen und -chemischen Parameter ist er gut für die ackerbauliche Nutzung geeignet. Mit diesem Boden wurden sowohl Feldversuche auf den Schlägen Nr. 284 und 272 als auch Laborexperimente durchgeführt.

Weiterhin wurde für Laborversuche der Boden NK273 verwendet. Im Pflughorizont des entsprechenden Schlags Nr. 273 findet sich Lößlehm mit Beimengungen von Tonmergel aus tieferen Schichten aufgrund von Bodenbearbeitungsmaßnahmen und Regenwurmaktivität. Charakteristisch für diesen schluffigen Lehm sind unter anderem eine hohe Kationenaustauschkapazität und ein hoher Anteil an Mikroporen, die zu einem hohen Wasserhaltevermögen führen. Physikalische und chemische Eigenschaften der verwendeten Böden sind in Tabelle 2.3 aufgelistet.

Tabelle 2.3

Kenndaten der verwendeten Böden aus den Untersuchungsgebieten Neuenkirchen und Nienwohlde (eigene Messungen; SFB 179, Forschungsbericht 1986-89; BUNTE, 1991; OTHMER, 1993; KUHN, 1997; WK_{max}: maximale Wasserkapazität; KAK: Kationenaustauschkapazität)

	Körnung [s / u / t in %]	C _{org} [%]	pH (CaCl ₂)	WK _{max} [%]	KAK [meq/100 g]	Charakterisierung
NK284	2 / 80 / 18	0,97	7,1	33,0	15	toniger Schluff
NK273	3 / 69 / 28	0,77	7,8	30,4	21	schluffiger Lehm
NW212T3	76 / 19 / 5	1,52	5,3	27,3	8	schluffiger Sand
NW101/a	86 / 11 / 3	0,53	5,8	26,6	7	lehmiger Sand
NW101/b	81 / 11 / 8	2,26	5,8	40,9*	-	lehmiger Sand
NW101/c	81 / 13 / 6	4,44	5,9	58,9	34	lehmiger Sand

* interpolierter Wert

2.2.2 Nienwohlde

Das Untersuchungsgebiet Nienwohlde (Abbildung 2.4) liegt am Rande des Uelzener Beckens etwa 80 km nördlich von Braunschweig. Seine durch Geschiebedecksande geprägten Böden (OTHMER, 1993) sind typisch für den Bereich der Lüneburger Heide.

Die südlich der Ortschaft Nienwohlde gelegene Flur „Birkenbusch“ wird seit einer Flurbereinigungsmaßnahme im Jahr 1971 ackerbaulich genutzt. Zuvor

waren dort sowohl Kiefernforst als auch Ackerland anzutreffen. Nach dem Entnahmeort wurde der für die Laborversuche verwendete schluffige Sand als NW212T3 bezeichnet. Feldversuche wurden auf den Schlägen Nr. 212T3 und 198T5 durchgeführt.

Für weitere Laborversuche wurden verschiedene Böden der nördlich von Nienwohlde gelegenen „Bosselwiese“ (Schlag Nr. 101T4-6) verwendet. Die verschiedenen Bereiche dieser Fläche wurden bis zur Flurbereinigung 1967 entweder ackerbaulich oder als Wiese genutzt oder waren mit Laubwald bestanden. Daraus resultiert eine große Variabilität von Bodenparametern wie pH-Wert oder C_{org} -Gehalt (BUNTE, 1991), während von ihrer Textur her alle in den Versuchen eingesetzten Böden als lehmige Sande einzustufen sind. Im einzelnen lauten die hier verwendeten Bezeichnungen für diese Böden NW101/a, NW101/b und NW101/c. In Tabelle 2.3 sind die physikalischen und chemischen Eigenschaften der verwendeten Böden zusammengestellt.

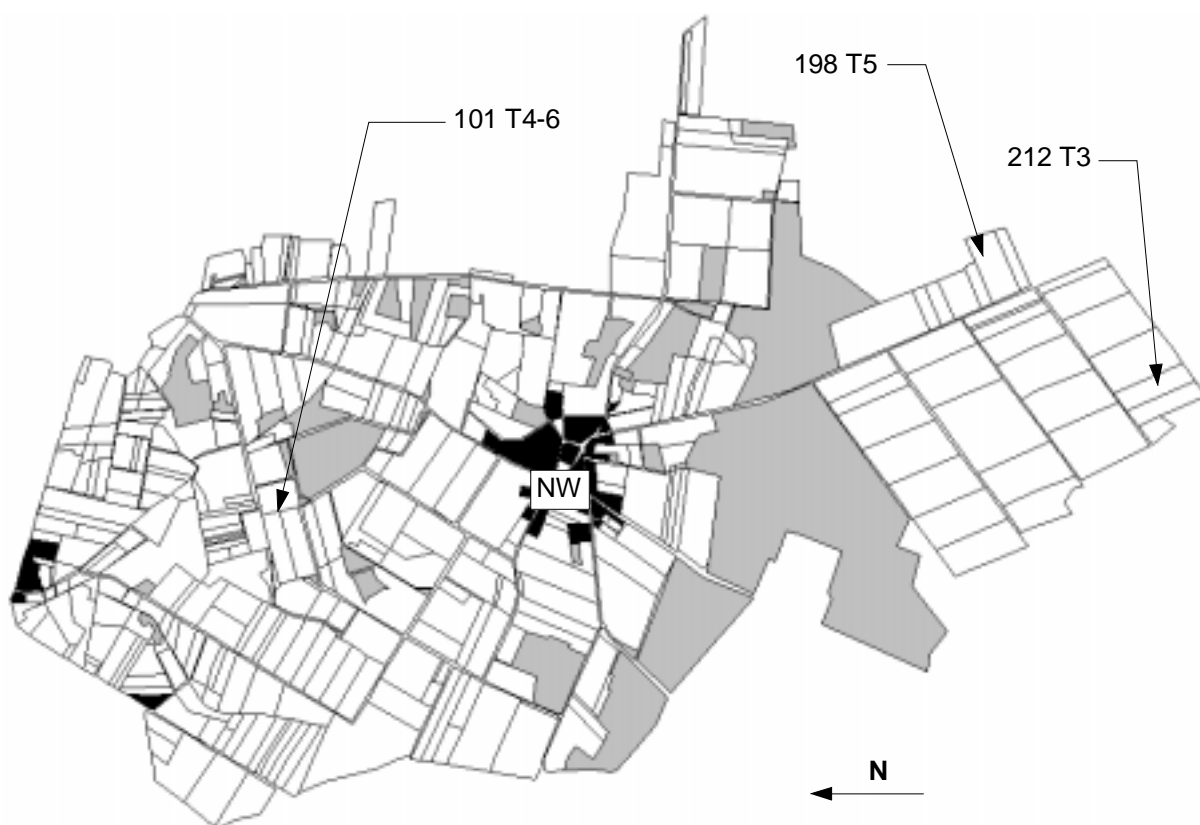


Abbildung 2.4

Schlagkarte des SFB-Standorts Nienwohlde (NW)

3 Material und Methoden

3.1 Verwendete Chemikalien und Geräte

3.1.1 Chemikalien und Verbrauchsmaterialien

Referenzsubstanzen

Die bei den rückstandsanalytischen Untersuchungen eingesetzten Referenzmaterialien, ihre jeweiligen Reinheitsgrade und ihre Herkunft sind in Tabelle 3.1 zusammengestellt. 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure wurde als Leitchemikalie für den Metaboliten 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure in einigen Versuchen eingesetzt.

Durch Auflösen von jeweils 10 mg Substanz in 10 mL Methanol oder Ethylacetat wurden Urstandards hergestellt, die bei -25 °C gelagert wurden. Arbeitsstandards für Dotierungen und Kalibrierung wurden durch Verdünnung der Urstandards mit geeigneten Lösemitteln hergestellt. Sie wurden bei 4 °C gelagert und regelmäßig neu angesetzt. Bei der Herstellung von Verdünnungen wurden Mikroliterspritzen aus Glas (Hamilton, Bonaduz, Schweiz) verwendet.

Tabelle 3.1

Verwendete Referenzmaterialien für die rückstandsanalytischen Untersuchungen

Substanz	Reinheit	Herkunft
Prochloraz	99 %	Riedel-de Haën, Seelze
Prochloraz-Formylharnstoff	keine Angabe*	AgrEvo, Saffron Walden, U.K.
Prochloraz-Harnstoff	keine Angabe*	AgrEvo, Saffron Walden, U.K.
2-(2,4,6-Trichlorphenoxy)ethanol	keine Angabe*	AgrEvo, Saffron Walden, U.K.
2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure	99,6 %	Ehrenstorfer, Augsburg
2,4,6-Trichlorphenol	99 %	Supelco, Bellefonte, USA

* bei der HPLC-Analytik der hieraus angesetzten Standardlösungen wurden keine Verunreinigungen nachgewiesen

Das bei den Radiotraceruntersuchungen zur Prochloraz-Rückstandsdynamik eingesetzte [Phenylring- ^{14}C]-Prochloraz wurde zum einen von der Firma AgrEvo (Saffron Walden, U.K.) zur Verfügung gestellt. Seine radiochemische

Reinheit wurde dünnschichtchromatographisch bestimmt und betrug 92 %. Die Aktivität der Gesamtmenge von 1,2 mg Wirkstoff lag bei 635 kBq, entsprechend einer spezifischen Aktivität von $0,53 \text{ MBq mg}^{-1}$. Durch Auflösen der Substanz in 1 mL Methanol wurde ein Urstandard hergestellt, mit dem die einzelnen Ansätze des ersten Laborabbauversuchs dotiert wurden. Die beim Spülen der verwendeten Gefäße anfallende Prochloraz-Lösung mit einer Aktivität von $13 \text{ Bq } \mu\text{L}^{-1}$ wurde als Vergleichsstandard bei DC-Untersuchungen verwendet.

Zum anderen wurde [Ring- ^{14}C]-Prochloraz für alle weiteren Radiotracerexperimente in methanolischer Lösung von der Firma Campro Scientific (Emmerich) bezogen. Die spezifische Aktivität der Substanz betrug $1,47 \text{ MBq mg}^{-1}$, die Radioaktivitätsmenge von 10 MBq entsprach somit einer Substanzmenge von 6,8 mg. Die dünnschichtchromatographische Untersuchung ergab eine radiochemische Reinheit von 97,8 %. Standardlösungen für die Dotierung von Abbauxperimenten mit Aktivitäten um $0,8 \text{ MBq } \mu\text{L}^{-1}$ wurden durch Verdünnung der Lösung mit Methanol hergestellt. Die hierbei anfallenden Spüllösungen wurden gleichfalls als Vergleichsstandards bei DC-Untersuchungen verwendet.

Anstelle gläserner Mikroliterspritzen wurden zur Entnahme kleiner Volumina von Lösungen von ^{14}C -Prochloraz Mikroliterpipetten (Socorex, Lausanne, Schweiz) mit Einweg-Spitzen verwendet.

Lösemittel

Die Lösemittel Aceton, Cyclohexan, Ethylacetat, n-Heptan, Methanol, 2-Propanol und Toluol in der Qualitätsstufe „residue analyzed“, Ethanol in p.a.-Qualität sowie Acetonitril in der Qualitätsstufe „gradient grade“ wurden von der Firma Mallinckrodt-Baker (Griesheim) bezogen. Das als HPLC-Fließmittel eingesetzte Wasser wurde einer Reinstwasseranlage (Seral Reinstwassersysteme, Ransbach-Baumbach) entnommen.

Szintillationscocktails

Die Auswahl der Szintillationscocktails richtete sich nach der Art der jeweils vorliegenden Probe. Wäßrige Lösungen (wäßrige Phasen nach Flüssig/flüssig-Verteilungen, $^{14}\text{CO}_2$ -Absorptionslösungen) wurden zur Messung mit Quicksafe A versetzt. Für Lösungen in organischen Lösemitteln (Probenextrakte) wurde Quicksafe N verwendet, mit Ausnahme von methanolischen Lösungen (Standardlösungen), bei denen Aquasafe 500 zum Einsatz kam (alle Zinsser

Analytic, Frankfurt). Gasförmiges $^{14}\text{CO}_2$ wurde zur Messung in CarboMax Plus (Lumac-LSC, Groningen, Niederlande) aufgefangen.

Reagenzien für Derivatisierungsreaktionen

Bei einigen Derivatisierungsexperimenten wurden neben den bereits oben aufgelisteten Lösemitteln zusätzlich Diethylether „residue analyzed“ und Dimethylsulfoxid, p.a. (DMSO; Mallinckrodt-Baker, Griesheim) verwendet. Als Derivatisierungsreagenzien kamen die folgenden Chemikalien zum Einsatz:

Dansylchlorid (5-Dimethylaminonaphthalin-1-sulfonsäurechlorid, DNSC)	Aldrich-Chemie, Steinheim
1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU)	Aldrich-Chemie, Steinheim
Dicyclohexyl-18-Krone-6	E. Merck, Darmstadt
Dinitrobenzoylchlorid (DNBC)	Aldrich-Chemie, Steinheim
Methyliodid, 99 %	Aldrich-Chemie, Steinheim
1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidin (MNNG)	Aldrich-Chemie, Steinheim
Natriumhydrid	Aldrich-Chemie, Steinheim
Natriumhydrogencarbonat, p.a.	E. Merck, Darmstadt
Natriumhydroxid, p.a.	E. Merck, Darmstadt
Pentafluorbenzoylchlorid (PFBC)	Fluka, Buchs, Schweiz
Pyridin, p.a.	E. Merck, Darmstadt
Triethylamin, p.a.	Mallinckrodt-Baker, Griesheim
Trifluoressigsäureanhydrid (TFAA)	Aldrich-Chemie, Steinheim

Sonstige Chemikalien und Verbrauchsmaterialien

Neben den bereits benannten Referenzsubstanzen, Lösemitteln, Szintillationscocktails und Derivatisierungsreagenzien wurden im Verlauf der Untersuchungen die folgenden Chemikalien und Verbrauchsmaterialien eingesetzt:

Aktivkohle, Ø 0,5-1 mm, für die Gaschromatographie	E. Merck, Darmstadt
Benzylalkohol „Oekanal“	Riedel-de Haën, Seelze
Calciumchlorid Dihydrat, p.a.	E. Merck, Darmstadt
Cellulose, mikrokristallin, für die Dünnschichtchromatographie	E. Merck, Darmstadt

Faltenfilter Typ 595½, Ø 185 mm	Schleicher & Schuell, Dassel
Glaswolle, mit Aceton extrahiert	
Kaliumdihydrogenphosphat, p.a.	E. Merck, Darmstadt
Kaliumhydroxid, p.a.	E. Merck, Darmstadt
Kieselgel 60, für die Chromatographie	E. Merck, Darmstadt
Membranfilter Chromafil® Typ O-45/15 organisch	Macherey-Nagel, Düren
Natriumchlorid, p.a.	E. Merck, Darmstadt
Natriumsulfat (wasserfrei), p.a.	E. Merck, Darmstadt
1-Octanol, p.a.	Riedel-de Haën, Seelze
Rundfilter Typ 595, Ø 90 mm	Schleicher & Schuell, Dassel
Salzsäure (32 %), p.a.	E. Merck, Darmstadt
¹⁴ C-Verbrennungsstandards für Oxidizer, CFR 101	Amersham Buchler, Braunschweig

3.1.2 Geräte

Glasgeräte wurden mit einem handelsüblichen Laborglasreiniger bei 95 °C (graduierte Gefäße bei 60 °C) in einer Laborspülmaschine gereinigt und mit demineralisiertem Wasser nachgewaschen. Unmittelbar vor dem Gebrauch wurden sie abhängig vom anschließend verwendeten Lösemittel nochmals mit Aceton oder Ethylacetat gespült. Die weiteren verwendeten Geräte sind im folgenden aufgeführt:

Analysensieb nach DIN 4188, Maschenweite 2 mm	Retsch, Haan
Elektronische Halbmikrowaage R 160 P	Sartorius, Göttingen
Fluotest Universal UV-Box	Heraeus Instruments, Hanau
Hg-Mitteldruckstrahler TQ 150	Heraeus Instruments, Hanau
Horizontalschüttler GFL Typ 3020	Gesellschaft für Labortechnik, Burgwedel
Horizontalschüttler KS 10 DIGI	Bühler, Bodelshausen
Inkubator BK-600	Heraeus Instruments, Hanau
Kontaminationszähler LB 1210B	Berthold, München

pH-Meter CG 840 mit Glaselektrode	Schott Geräte, Hofheim Ts.
Präzisionswaage LAB-Plus	Sartorius, Göttingen
Rotationsverdampfer Büchi RE 111 mit B-160	Büchi Laboratoriums-Technik,
Vacubox und Wasserbad	Göppingen
Sanoclav-Sterilisations-Autoklav	Wolf, Geislingen
Sapromat D 12	J. M. Voith, Heidenheim
TOC-Analysator Dohrmann DC-90 mit	Dohrmann, München
Feststoffmodul	
Trockenmassebestimmungsgerät Ultra-X 210	A. Gronert, Lage
Trockenschrank ET 5084 E/EK	Heraeus Instruments, Hanau
Ultraschallbad Sonorex RK 512S	Bandelin Electronic, Berlin

Die chromatographischen Systeme sowie die Geräte für die Radiotraceranalytik werden zusammen mit den jeweiligen Meßparametern in den Kapiteln 3.3.1 und 3.3.3 beschrieben.

3.2 Probenaufarbeitung

3.2.1 Aufarbeitung von Bodenproben für die Rückstandsanalytik

Extraktion und Flüssig/flüssig-Verteilung

Die für die Aufarbeitung der Bodenproben verwendete Methode orientierte sich in weiten Teilen an der DFG-Multimethode S19 für die Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln (DFG, 1991). 50 + x g Boden (x = Wassergehalt) wurden in einen 250 mL-Erlenmeyerkolben eingewogen und mit 10 g Celite® 545-Filtrierhilfsmittel versetzt. Zur Extraktion wurden 100 mL Aceton und 50 - x mL Wasser hinzugegeben und der Ansatz 12 h auf einem Horizontalschüttler bei 220 min⁻¹ geschüttelt. Anschließend wurde die Suspension bei geringem Unterdruck über einen Papierfilter filtriert, der Filtrierrückstand zunächst mit 50 mL eines 1:1-Gemisches (v/v) von Wasser und Aceton nachgespült und danach mit 25 mL Aceton gewaschen.

Das Filtrat wurde in einen 500 mL-Schütteltrichter überführt, durch Zugabe von etwa 20 g NaCl ausgesalzen und mit 100 mL Cyclohexan ausgeschüttelt. Dieses Lösemittel stellt einen geeigneten Ersatz für das in der S19-Vorschrift verwendete Dichlormethan dar, dessen Einsatz aufgrund seiner adversen

human- und ökotoxikologischen Eigenschaften nach Möglichkeit vermieden werden sollte (KOINECKE *et al.*, 1994). Nach Ablassen der wäßrigen Phase wurde die organische Phase durch Filtration über einen mit etwa 80 g Na₂SO₄ gefüllten Faltenfilter getrocknet und der Filter anschließend mit 50 mL Ethylacetat nachgespült. Die Lösung wurde am Rotationsverdampfer bis fast zur Trockne eingeeengt, in einem 1:1-Gemisch (v/v) von Cyclohexan und Ethylacetat aufgenommen und durch einen 0,45 µm-Membranfilter in einen 5 mL-Meßkolben mikrofiltriert.

Clean-Up

In einem ersten Aufreinigungsschritt wurden aus dem Extrakt Huminstoffe und andere hochmolekulare Verunreinigungen mittels Gelpermeationschromatographie über Bio-Beads[®] S-X8 abgetrennt (Kapitel 3.3.1). Die Analyte Prochloraz, Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff waren in der Fraktion von 80-160 mL enthalten. Das Eluat wurde am Rotationsverdampfer bis fast zur Trockne eingeeengt und danach in Cyclohexan umgelöst.

Zur Abtrennung weiterer Probeninhaltsstoffe wurde eine Mini-Kieselgelsäule eingesetzt. Kieselgel 60 wurde 24 h bei 130 °C aktiviert und danach auf einen Wassergehalt von 1,5% eingestellt. In eine mit n-Heptan gefüllte Glassäule (Innendurchmesser 6 mm) wurde ein Pfropfen aus Glaswolle geschoben und darüber 1 g des desaktivierten Kieselgels eingeschlämmt. Anschließend wurde die sedimentierte Füllung mit 10 mL n-Heptan gespült und mit etwas Natriumsulfat überschichtet. Nach dem Aufgeben der Probe wurde sequentiell mit jeweils 10 mL Toluol, einem 8:2-Gemisch (v/v) von Toluol und Aceton sowie Aceton eluiert. In der zweiten Fraktion befanden sich Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz, während Prochloraz-Harnstoff mit der dritten Fraktion von der Säule eluiert wurde. Diese beiden Fraktionen wurden vereinigt und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das verbleibende Toluol wurde dabei am Schluß mit überschüssigem 2-Propanol als Azeotrop (2-Propanol/Toluol im Volumenverhältnis 69:31) ausgetrieben. Nach Zugabe von zwei bis drei Tropfen 1-Octanol als Keeper wurde das Lösemittel im leichten Stickstoffstrom vollständig entfernt und der Rückstand anschließend in 1 mL 2-Propanol aufgenommen.

Modifizierte Flüssig/flüssig-Verteilung für die Analytik der Substanzen des „6MIX“-Standards

Proben, in denen neben Prochloraz, Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff zusätzlich die Verbindungen 2-(2,4,6-Trichlorphenoxy)ethanol, 2,4,5-

bzw. 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure und 2,4,6-Trichlorphenol bestimmt werden sollten, wurden einer modifizierten Flüssig/flüssig-Verteilung unterworfen. Um die basischen bis neutralen Substanzen aus der wäßrigen in die organische Phase zu überführen, wurde zunächst im pH-neutralen Bereich wie bereits beschrieben mit 100 mL Cyclohexan ausgeschüttelt. Nach Abtrennung der organischen Phase wurde die wäßrige Phase mit 1 mL konzentrierter Salzsäure angesäuert und ein zweites Mal mit 100 mL Aceton und 100 mL Cyclohexan extrahiert. Unter diesen Bedingungen konnten auch die nach der ersten Flüssig/flüssig-Verteilung im neutralen Bereich noch in der wäßrigen Phase verbliebenen Anteile von 2,4,6-Trichlorphenol und insbesondere 2,4,5- bzw. 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure in die organische Phase überführt werden. Beide organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet und vereinigt. Durch die Zweiteilung der Flüssig/flüssig-Extraktion konnte die in Vorversuchen nachgewiesene Hydrolyse von Prochloraz-Formylharnstoff zu Prochloraz-Harnstoff unter stark sauren Bedingungen verhindert werden. Die weitere Behandlung des vereinigten organischen Extrakts erfolgte wie oben beschrieben.

3.2.2 Aufarbeitung von Bodenproben für die Radiotraceranalytik

Die Aufarbeitung der Bodenproben aus den Abbaubersuchen mit ^{14}C -markiertem Prochloraz erfolgte im Prinzip analog zur Aufarbeitung der Proben mit nicht markiertem Wirkstoff (Kapitel 3.2.1). Jedoch wurde hier nur die halbe Bodenmenge von $25 + x$ g Boden (x = Wassergehalt) ohne Zugabe von Filtrierhilfsmitteln mit 100 mL Aceton und $50 - x$ mL Wasser extrahiert. Für das Nachspülen und Waschen des Filtrierrückstands wurden jeweils die doppelten Lösemittelmengen von 100 mL eines 1:1-Wasser/Aceton-Gemisches (v/v) bzw. 50 mL Aceton verwendet.

Nach Aussalzen und Flüssig/flüssig-Verteilung mit Cyclohexan wurde die in der wäßrigen Phase verbliebene Restaktivität mittels Flüssigszintillationszählung ermittelt. Wenn diese Aktivität den Wert von 500 Bq überstieg, wurde die wäßrige Phase nochmals mit 100 mL Aceton und 100 mL Cyclohexan nachextrahiert und die organische Phase dieser Nachextraktion mit der organischen Phase aus der ersten Extraktion vereinigt. Die gesamte organische Phase wurde am Rotationsverdampfer eingeeengt, danach durch einen $0,45\text{ }\mu\text{m}$ -Membranfilter mikrofiltriert und in 2 mL Ethylacetat umgelöst.

Der als Filtrierrückstand verbliebene extrahierte Boden wurde in einen 100 mL-Rundkolben überführt, im leichten Vakuum bei $40\text{ }^\circ\text{C}$ getrocknet und anschließend in ein Probenglas umgefüllt.

3.3 Analytische Nachweismethoden

3.3.1 Methoden der Rückstandsanalytik

Clean-Up mittels Gelpermeationschromatographie

Für die Abtrennung hochmolekularer Matrixbestandteile aus Bodenextrakten wurde das folgende GPC-System (Abimed, Düsseldorf) eingesetzt.

Pumpe: Gilson Pumpe M 305 mit Manometermodul M 807
Probenaufgabe: Gilson Injektor M 231 mit Gilson Dilutor M 401 (5 mL-Spritze) und Rheodyne 7010 Probenschleife
Injektionsvolumen 4,5 mL
Säule: LC-1-23, Länge 58 cm, Innendurchmesser 25,4 mm (Latek, Eppelheim)
Bio-Beads® S-X8, 200-400 mesh (Bio-Rad, München), vor Befüllen der Säule 12 h im Eluenten gequollen
Eluent: Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)
Flußrate 5 mL min⁻¹
Probensammler: Gilson Fraktionssammler M 201

Die Elutionsvolumina der einzelnen Verbindungen wurden mit Hilfe von Standardlösungen bestimmt. Folgendes Sammlerprogramm wurde für alle Analysen verwendet.

0 - 80 mL	Vorlauf
80 - 160 mL	Analytfraktion
160 - 220 mL	Nachlauf

Gaschromatographie mit massenspektrometrischer Detektion

Die massenspektrometrische Detektion nach GC-Trennung erfolgte mit einem Quadrupol-Massenspektrometer, in dem die Probenionisation sowohl mittels Elektronenstoßionisation (EI) als auch mittels negativer oder positiver chemischer Ionisation (NCI und PCI) vorgenommen werden kann. Für Vergleichszwecke können an diesem Gerät Massenspektren einzelner Substanzen über Direkteinlaß aufgenommen werden.

Gaschromatograph: Varian 3400 (Varian, Darmstadt) mit HP 7673 Autosampler (Hewlett-Packard, Waldbronn)

Injektor:	Kaltaufgabesystem 3 (Gerstel, Mühlheim) 80 °C (5 s) → 12 °C s ⁻¹ → 350 °C (300 s), 60 s splitless septum purge 5 mL min ⁻¹ , Splitfluß 35 mL min ⁻¹ aufgegebenes Probenvolumen 1 µL
Trennsäule:	HT-8 fused silica Kapillarsäule, Siloxan-Carboran- Copolymer (SGE, Victoria, USA) 25 m × 0,22 mm × 0,25 µm
Trärgas:	Helium 4.6 (Linde, Höllriegelskreuth), 1,2 ml min ⁻¹
Temperaturprogramm:	60 °C (1 min) → 10 °C min ⁻¹ → 300 °C (10 min)
Detektor:	Quadrupol-Massenspektrometer SSQ 700 (Finnigan MAT, Bremen) direkte Kopplung, Transferline 280 °C MS-Temperatur 70 °C (Manifold) Ionisationsenergie (EI) 70 keV Reaktandgas (NCI, PCI) Methan 4.5 (Linde, Höllriegelskreuth) Meßmodus Full scan (m/z 60-400)

Gaschromatographie mit Elektroneneinfangdetektor

Experimente zur gaschromatographischen Bestimmung von Prochloraz und Metaboliten mittels GC/ECD wurden am gleichen System sowohl mit einem Split/splitless- (A) als auch mit einem On column-Injektor (B) durchgeführt.

Gaschromatograph:	HP 5890 Series II mit HP 7673 Autosampler (Hewlett-Packard, Waldbronn)
Injektor (A):	Split/splitless-Injektor 280 °C, 0,5 min splitless septum purge 5 mL min ⁻¹ , Splitfluß 35 mL min ⁻¹ aufgegebenes Probenvolumen 1 µL
Injektor (B):	On column-Injektor 60 °C (1 min) → 20 °C min ⁻¹ → 300 °C (0 min) aufgegebenes Probenvolumen 1 µL
Trennsäule:	DB-5 fused silica Kapillarsäule, 95 % Dimethyl- 5 % Phenylpolysiloxan (J & W Scientific, Folsom, USA) 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm bei On column-Injektion (B) mit vorgeschalteter Retention gap (1 m × 0,53 mm)

Trärgas: Helium 4.6 (Linde, Höllriegelskreuth), 1,1 ml min⁻¹
Temperaturprogramm: A - 70 °C (0 min) → 10 °C min⁻¹ → 300 °C (10 min)
B - 60 °C (1 min) → 20 °C min⁻¹ → 300 °C (10 min)
Detektor: ⁶³Ni-Elektroneneinfangdetektor (ECD)
330 °C
Make up-Gas Stickstoff 5.0 (Linde, Höllriegelskreuth),
52,5 ml min⁻¹

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit Diodenarraydetektion

Es wurde ein modular aufgebautes System (Hewlett-Packard, Waldbronn) mit folgenden Komponenten verwendet.

Pumpe: HP 1050 Quaternäre Pumpe
Entgasung der Eluenten durch kontinuierliches Durchspülen mit Helium
Probenaufgabe: HP 1050 Automatischer Probengeber
aufgegebenes Probenvolumen 20 µL
Trennsäule LiChrospher 60 RP-select B 125-4, 5 µm (E. Merck, Darmstadt)
Säulenofen Jones Chromatography (VDS optilab, Berlin)
Temperatur 30 °C
Detektion HP 1040A Diodenarraydetektor
Detektionswellenlängen $\lambda = 205$ nm, $\lambda = 225$ nm

Abhängig von den zu erfassenden Substanzen wurden zwei verschiedene Gradientenprogramme eingesetzt

Substanzen des „3MIX“-Standards - Prochloraz, Prochloraz-Formylharnstoff,
Prochloraz-Harnstoff:

Eluenten: 0,001 M KH₂PO₄, KOH ad pH 8; Acetonitril

Flußrate: 1 mL min⁻¹

0 min 30 % Acetonitril
2 min 30 % Acetonitril
20 min 66 % Acetonitril
21 min 90 % Acetonitril (Spülen der Säule)

Substanzen des „6MIX“-Standards - Prochloraz, Prochloraz-Formylharnstoff,
Prochloraz-Harnstoff, 2-(2,4,6-Trichlorphenoxy)ethanol, 2,4,5-Trichlor-
phenoxyessigsäure, 2,4,6-Trichlorphenol:

Eluenten: 0,001 M KH₂PO₄, H₃PO₄ ad pH 2,5; Acetonitril

Flußrate: 1 mL min⁻¹

0 min 30 % Acetonitril

5 min 30 % Acetonitril

35 min 60 % Acetonitril

40 min 90 % Acetonitril (Spülen der Säule)

3.3.2 Derivatisierungsreaktionen

Methylierung mit Diazomethan

Diazomethan wurde in einer speziellen Glasapparatur (Aldrich, Steinheim) in Anlehnung an die von FALES *et al.* (1973) beschriebene Methode dargestellt. Im Innenrohr der Apparatur wurden etwa 500 mg feuchtes 1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidin (MNNG) und im umschließenden äußeren Zylinder 5 mL Diethylether vorgelegt. Durch ein Septum wurden langsam und unter Eiskühlung 0,6 mL einer 5 M Natronlauge auf das MNNG gegeben. Das dabei freigesetzte Diazomethan löst sich im Diethylether. Nach Abschluß der Reaktion (Dauer etwa 1 h) wurden 1 mL der etherischen Diazomethanlösung zu 1 mL einer Lösung von etwa 10 µg der zu derivatisierenden Substanz in einem aprotischen Lösemittel gegeben und der Ansatz unter gelegentlichem Umschütteln 1 h bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschließend wurden Lösemittel und nicht abreagiertes Diazomethan im leichten Stickstoffstrom abgeblasen und die nicht flüchtigen Reaktionsprodukte in einem für die nachfolgende Analytik geeigneten Lösemittel aufgenommen.

Methylierung mit Methyliodid

Die verwendete Methode zur Methylierung reaktiver NH-Funktionen mit Methyliodid orientierte sich an der von GREENHALGH und KOVACIKOVA (1975) vorgestellten Vorschrift. In einem Reaktionsgefäß wurden 1 mg der zu derivatisierenden Substanz in 1 mL n-Heptan vorgelegt und mit ungefähr 10 mg Natriumhydrid versetzt. Weiterhin wurden 100 µL DMSO und 100 µL Methyliodid zugegeben. Das verschlossene Reaktionsgefäß wurde zunächst 2 h bei Raumtemperatur belassen und danach 15 min auf 50 °C erhitzt. Nach Abkühlen wurde der Ansatz mit 1 mL Wasser versetzt und dreimal mit je 1 mL n-Heptan extrahiert. Von den vereinigten organischen Phasen wurde das Lösemittel im leichten Stickstoffstrom abgeblasen und der Rückstand in 2-Propanol aufgenommen.

Versuchsvarianten umfaßten sowohl eine verlängerte Reaktionsdauer von 12 h bei 50 °C als auch den Einsatz unterschiedlicher Lösemittel (Acetonitril, DMSO oder n-Heptan) anstelle des beschriebenen DMSO/n-Heptan-Gemischs.

Acylierung mit Dinitrobenzoylchlorid

Die zu derivatisierende Substanz wurde in 1 mL Toluol gelöst und mit 3 Tropfen Pyridin versetzt. Anschließend wurde Dinitrobenzoylchlorid (DNBC) im etwa 100-fachen Überschuß als Lösung in 1 mL Toluol zugegeben, das Reaktionsgefäß verschlossen und 2 h auf 60 °C erhitzt. Nach Zugabe von 2 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung wurde der Ansatz gut durchgeschüttelt, die organische Phase abgetrennt und die wäßrige Phase zweimal mit je 1 mL Toluol nachextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, das Lösemittel am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand in 2-Propanol aufgenommen.

Acylierung mit Pentafluorbenzoylchlorid

Für die Derivatisierung mit Pentafluorbenzoylchlorid (PFBC) wurden zu 1 mL einer Lösung der zu derivatisierenden Substanz in Toluol 3 Tropfen Pyridin und 10 µL PFBC gegeben, entsprechend einem etwa 100-fachen Überschuß des Derivatisierungsreagens. Alle weiteren Schritte erfolgten wie für die Umsetzung mit DNBC beschrieben.

Bei weiteren Versuchen wurden das Lösemittel sowie die als Katalysator wirksame Base modifiziert. Zum einen wurde Toluol durch n-Heptan ersetzt, wobei als Base entweder Pyridin oder Triethylamin eingesetzt wurde, zum anderen wurde die gesamte Reaktion in Triethylamin als Lösemittel durchgeführt.

Acylierung mit Trifluoressigsäureanhydrid

Die für die Umsetzung mit Trifluoressigsäureanhydrid (TFAA) gewählten Bedingungen entsprachen prinzipiell denjenigen, die für die Reaktionen mit DNBC oder PFBC verwendet wurden. Als Lösemittel diente entweder n-Heptan, wobei als Katalysatorbase Pyridin zugegeben wurde, oder aber Pyridin allein.

Acylierung mit Dansylchlorid

Versuche zur Derivatisierung mit Dansylchlorid (DNSC) wurden durchgeführt wie für die Umsetzung mit DNBC oder PFBC beschrieben. Bei der Reaktion in

Toluol wurde als Katalysatorbase entweder Pyridin oder 1,8-Diaza-bicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) eingesetzt. Zusätzlich wurde die Reaktion in Pyridin und in Triethylamin als alleinigem Lösemittel durchgeführt.

Bei der nach der Vorschrift von CASSIDY *et al.* (1974) durchgeführten Reaktion wurden zum Analyten und einem 10-fachen Überschuß von DNSC in 2 mL Aceton 300 µL 0,1 M Na₂CO₃-Lösung zugegeben und der Ansatz im verschlossenen Gefäß 30 min auf 50 °C erhitzt. Anschließend wurde nicht umgesetztes Derivatisierungsreagens durch Zugabe von 500 µL 1 M Natronlauge hydrolysiert, der Ansatz mit insgesamt 5 mL n-Heptan extrahiert und die dabei erhaltene organische Phase in 2-Propanol umgelöst.

Nach DAVIS (1978) kann eine Dansylierung mit DNSC in einem organischen Lösemittel auch durch „nackte“ Fluoridionen katalysiert werden. Äquimolare Mengen von Kaliumfluorid und Dicyclohexyl-18-Krone-6, das geeignet ist, K⁺-Ionen zu solvatisieren, wurden unter Erhitzen in Ethylacetat gelöst. Die zu derivatisierende Substanz wurde mit einem 50-fachen Überschuß an Kaliumfluorid/Dicyclohexyl-18-Krone-6 sowie einem 100-fachen Überschuß von DNSC in Ethylacetat versetzt und 12 h im verschlossenen Reaktionsgefäß auf 70 °C erhitzt. Danach wurde das Lösemittel durch Abblasen im Stickstoffstrom entfernt und der Rückstand in 2-Propanol aufgenommen.

3.3.3 Methoden der Radiotraceranalytik

Flüssigszintillationszählung

Die Radioaktivität in organischen und wäßrigen Lösungen wurde mit dem Liquid Scintillation Counter (LSC) Tri-Carb® 2500 TR (Packard Instrument Company, Downers Grove, USA) bestimmt. Dafür wird eine Probe mit einem Szintillationscocktail versetzt, der typischerweise aus einem aromatischen organischen Lösemittel, einer Szintillatorsubstanz und geeigneten Lösungsvermittlern zusammengesetzt ist. Die von den ¹⁴C-Atomen der markierten Substanz emittierten β-Partikel führen zu einer Anregung von Molekülen des aromatischen organischen Lösemittels. Diese übertragen ihre Anregungsenergie auf Moleküle der Szintillatorsubstanz. Beim Zurückfallen in den Grundzustand emittieren letztere die übertragene Energie in Form von Licht. Die Fluoreszenzstrahlung wird vom Gerät in ihrer Spektralverteilung registriert und erlaubt die Quantifizierung der Radioaktivität. Anhand der kontinuierlichen Energiespektren können zudem unterschiedliche β-Strahler voneinander unterschieden werden.

Dieser Prozess wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst. Probenbestandteile können entweder die abgestrahlte β -Energie direkt oder die vom Szintillator emittierte Fluoreszenzstrahlung absorbieren oder aber einen strahlungslosen Übergang des Szintillators in den Grundzustand bewirken. Derartige Effekte werden als Quenching bezeichnet. Das Gerät berücksichtigt dies durch automatische Bestimmung des Probenquenchs mit Hilfe einer externen γ -Strahlenquelle (^{133}Ba , 740 kBq). Weiterhin kann die Szintillatorsubstanz auch auf chemischen Weg durch Probenbestandteile angeregt werden, wodurch es zu Chemolumineszenz kommt. Um diesen und weitere Effekte auszugleichen (stark gefärbte Proben, statische Aufladung etc.), können jeweils geräteinterne Korrekturfunktionen aktiviert werden.

Für die Bestimmung der Radioaktivität wurde ein Aliquot (50 μL - 10 mL, abhängig von der enthaltenen Aktivität) der zu untersuchenden Lösung in ein LSC-Vial gegeben und mit einem geeigneten Cocktail (Kapitel 3.1.1) versetzt. Die Messung erfolgte im Single-dpm-Modus für ^{14}C , wobei als Quenchindikator der transformierte Spektralindex des externen Standards mit automatischer Kontrolle der Zählrohrbeute (tSIE/AEC) verwendet wurde. Die Korrekturfunktionen für Chemolumineszenz und statische Aufladung waren durchgängig aktiviert, die Farbkorrektur nur bei stark gefärbten Proben. Die Meßzeiten für die unterschiedlichen Proben lagen zwischen 15 und 30 min.

Verbrennungsautomat

Die Radioaktivität in festen Proben (Bodenproben) wurde mit dem Biological Material Oxidizer OX-500 (Harvey, Hilsdale, USA) bestimmt. In diesem Gerät wird die Probe im Sauerstoffstrom von 350 mL min^{-1} bei 900 °C verbrannt. Die Verbrennungsgase werden bei 600-650 °C über eine Kaskade von Platin-, Kupferoxid- sowie Kupfer/Mangan-Katalysatoren und schließlich durch ein LSC-Vial mit 15 mL eines speziellen Szintillationscocktails geleitet, der ein organisches Amin zum Binden des bei der Verbrennung freigesetzten $^{14}\text{CO}_2$ enthält. Die so aufgefangene Radioaktivität wird im LSC quantifiziert.

Ein Aliquot von etwa 300 mg einer Bodenprobe wurde mit etwa 25 mg Cellulose in einem Verbrennungsschiffchen aus Porzellan verbrannt. Die Dauer eines Verbrennungszyklus betrug 4 min. Die Bestimmung wurde für jede Bodenprobe in vierfacher Wiederholung durchgeführt. Zur Kontrolle der Gerätefunktion wurden zusätzlich in regelmäßigen Abständen Standards mit bekannter ^{14}C -Aktivität verbrannt und die Wiederfindungsraten bestimmt. Diese lagen im typischen Fall zwischen 92 und 94 %.

Dünnschichtchromatographie mit Detektion durch einen Linear Analyzer

Zur chromatographischen Auftrennung der Bestandteile von Bodenextrakten oder Standardlösungen diente die Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel. Es wurden SILGUR-25-Platten $20 \times 20 \text{ cm}^2$ mit Aufkonzentrierungszone (Macherey-Nagel, Düren) verwendet, die zuvor 2 h im Trockenschrank bei 105°C konditioniert wurden. Aliquote der zu untersuchenden Lösungen wurden nebeneinander punktförmig in der Aufkonzentrierungszone aufgetragen, wobei die Abstände dieser Startflecke (bezogen auf ihre Mittelpunkte) voneinander sowie zu den Plattenrändern mindestens 1,5 cm betrugen. Das aufgetragene Volumen orientierte sich an der Aktivität der Lösungen und betrug bei Bodenextrakten typischerweise $6 \mu\text{L}$.

Die Entwicklung der DC-Platten erfolgte in lösemittelgesättigten Trogkammern (Desaga, Heidelberg). Dabei kamen zwei unterschiedliche Laufmittelsysteme zum Einsatz.

Laufmittelsystem A: Toluol/Ethanol 15:1 (v/v)

Laufmittelsystem B: Ethylacetat/Hexan 3:1 (v/v)

Die Detektion der Intensität und der örtlichen Verteilung der Radioaktivität auf den DC-Platten erfolgte mit dem Tracemaster 20 Automatic TLC-Linear Analyzer LB 284 (Berthold, München). Das Gerät besitzt ein ortsempfindliches Proportionalzählrohr, das schrittweise über die auf einem Meßtisch fixierten DC-Platten bewegt wird, wobei sein Anodendraht längs der Laufrichtung bei der Entwicklung der Platten orientiert ist. Das Zählrohr wird von einem Argon/Methan-Gasgemisch (90 % Argon 4.8, 10 % Methan 3.5, Messer-Griesheim, Langenhagen) durchströmt. Durch emittierte β -Partikel werden Argonatome ionisiert. Infolge der angelegten Hochspannung zwischen Anodendraht und Kathodendrähten kommt es zu weiterer Stoßionisation und letztlich zu einer Ladungsübertragung auf den Anodendraht. Da das Gerät den Ort jeder einzelnen Ladungsübertragung über die Laufzeit des entsprechenden Signals bis zur Auswertungselektronik genau bestimmen kann, erhält man insgesamt ein Abbild aller Zerfallsereignisse längs des Anodendrahts, welches der Verteilung der radioaktiven Substanzen auf der Platte entspricht.

Die Messung der Chromatogramme von Bodenextrakten oder Standardlösungen wurde mit der bestmöglichen Ortsauflösung durchgeführt. Die Breite der Blende vor dem Proportionalzählrohr betrug 1,5 cm. Die Meßzeit war abhängig von der aufgetragenen Aktivität. Letztere lag bei Bodenextrakten

typischerweise in einer Größenordnung von 100 Bq, die dafür gewählte Meßdauer betrug 2 h.

Die Identifizierung einzelner Substanzen erfolgte durch den Vergleich ihrer R_f -Werte mit denjenigen von Referenzchemikalien. Da diese mit Ausnahme von Prochloraz nur als nicht ^{14}C -markierte Verbindungen vorlagen, wurden sie auf den DC-Platten entweder durch Fluoreszenzlöschung (bei Verwendung von Platten mit Fluoreszenzindikator) oder durch Besprühen mit methanolischer Iodlösung sichtbar gemacht.

3.4 Auswertung der Meßergebnisse

3.4.1 Rückstandsanalytik mit HPLC/DAD

Chromatogramme und UV-Spektren wurden mit dem Gerätesteuerungs- und Auswerteprogramm HP ChemStation (Hewlett Packard, Waldbronn) aufgenommen. Die Bestimmung der Peakflächen erfolgte durch manuelle Integration, da die automatische Integrationsfunktion bei den matrixbelasteten Proben keine reproduzierbaren Ergebnisse lieferte. Die Quantifizierung der Analyte in den Proben erfolgte nach der Methode der externen Standardisierung. Zur Ermittlung der entsprechenden linearen Kalibrierfunktionen wurden Standardlösungen im Konzentrationsbereich zwischen 0,1 und 10,0 ng μL^{-1} analysiert.

Rückstandsgehalte in Bodenproben aus Abbaubersuchen wurden in Doppelbestimmung ermittelt. Gleichzeitig wurde jeweils eine unbehandelte Kontrollprobe mitanalysiert und die dabei gefundenen Blindwerte von den entsprechenden Analytgehalten abgezogen. Bei der Umrechnung der Konzentration in der Probenlösung auf die Konzentration im Boden war die Aliquotierung der Probe bei der GPC zu berücksichtigen.

Aussagen über die Persistenz einer Substanz im Boden beziehen sich häufig auf die Halbwertszeit, den Zeitraum also, in dem die anfängliche Konzentration der Substanz auf die Hälfte abgenommen hat. Dieser Ansatz setzt voraus, daß der für die Konzentrationsabnahme verantwortliche Prozeß einer Kinetik 1. Ordnung folgt. Davon kann jedoch in einem komplexen belebten System, wie es der Boden darstellt, nicht automatisch ausgegangen werden. Von TIMME *et al.* (1986) wurden Anpassungsfunktionen für Abnahmekurven vorgestellt, die auf der Basis linearisierender Transformationen eine Beschreibung auch von Verläufen ermöglichen, denen nicht eine Kinetik 1. Ordnung zugrundeliegt.

Zudem können mit diesen Funktionen DT_x -Werte (DT = Disappearance Time, x = jeweiliger Prozentsatz der Ausgangskonzentration) berechnet werden, die sich zu Vergleichszwecken heranziehen lassen. Die Transformationen sind in Tabelle 3.2 aufgelistet. Dabei stellt die Verwendung von Reaktionsordnungen lediglich eine formale Anlehnung an die Reaktionskinetik dar.

Tabelle 3.2

Linearisierende Transformationen für die allgemeine Geradengleichung $y = a + bx$ zur Anpassung von Abnahmekurven; WZ = „Wurzelfunktion“

Funktion	Transformation für den Rückstand: $y = f(R)$	Transformation für die Zeit: $x = f(t)$
1. Ordnung	$\log R$	keine
1,5. Ordnung	$1/\sqrt{R}$	keine
2. Ordnung	$1/R$	keine
WZ 1. Ordnung	$\log R$	\sqrt{t}
WZ 1,5. Ordnung	$1/\sqrt{R}$	\sqrt{t}
WZ 2. Ordnung	$1/R$	\sqrt{t}

Die DT -Werte wurden jeweils mit der Funktion berechnet, bei der die beste Übereinstimmung zwischen gemessenen und simulierten Rückstandsgehalten vorlag. Als Kriterium hierfür wurde das dimensionslose modifizierte Bestimmtheitsmaß r^2 herangezogen. Eine Transformation beschreibt die realen Verhältnisse um so besser, je näher dieser Wert bei 1 liegt.

3.4.2 Radiotraceranalytik

Die Dünnschichtchromatogramme von Bodenextrakten aus Abbauversuchen mit ^{14}C -markiertem Prochloraz wurden mit dem Gerätesteuierungs- und Auswerteprogramm CHROMA 7.25 des TLC-Linear Analyzer (Berthold, München) aufgenommen. Um die manuelle Integration zu erleichtern, wurde zunächst die programmeigene Glättungsfunktion auf die Chromatogramme angewandt. Bei der quantitativen Auswertung wurden die Flächen der einzelnen Peaks auf die Summe aller Peakflächen („regions of interest“, ROI) bezogen. Dabei wurde die programmeigene Blindwertkorrektur mit einem definierten, keine Peaks enthaltenden Bereich des Chromatogramms aktiviert, um so den Einfluß des apparativen Rauschens auszuschließen. Zur Berechnung absoluter Gehalte

wurden die erhaltenen Prozentangaben mit dem durch LSC-Messung erhaltenen Wert für die Gesamtaktivität des Extrakts multipliziert.

3.5 Bestimmung ergänzender Bodenparameter

3.5.1 Wassergehalt

Zur schnellen Ermittlung des Bodenwassergehalts wurde das Trockenmassebestimmungsgerät Ultra-X 210 eingesetzt. Das Gerät besteht aus einer Waage und einem direkt über der Waagschale angebrachten regelbaren IR-Strahler. Durch diesen wird die Probe erhitzt und das Wasser ausgetrieben. Gleichzeitig wird der Masseverlust durch Wägung erfaßt. Sobald Massekonstanz erreicht ist, wird der IR-Strahler automatisch abgeschaltet und der ermittelte Wassergehalt ausgegeben.

Die Übereinstimmung dieser Werte mit Wassergehalten, die nach DIN 38414, Teil 2 durch Trocknung bei 105 °C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz ermittelt wurden, konnte in Vorversuchen bestätigt werden.

3.5.2 Mikrobielle Bodenaktivität

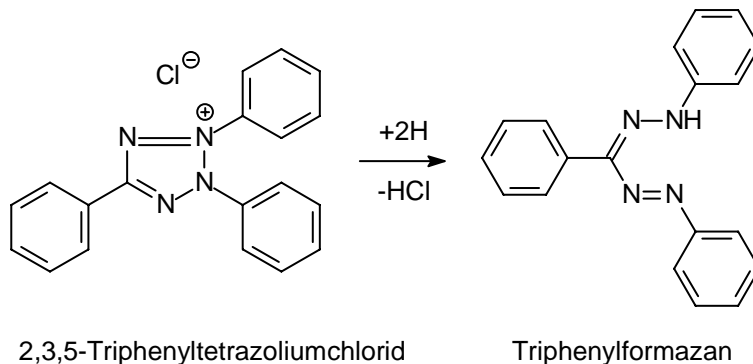
Dehydrogenaseaktivität

Dehydrogenasen sind ein wichtiger Bestandteil des Enzymsystems aller Mikroorganismen. Da sie nur in lebenden Zellen aktiv sind, erlaubt die Messung der Dehydrogenaseaktivität einen Rückschluß auf die allgemeine mikrobielle Stoffwechselaktivität des Bodens (BECK, 1984; FRANK und MALKOMES, 1993a; FRANK und MALKOMES, 1993b).

Die Messung der Dehydrogenaseaktivität basiert auf Reduktion des farblosen, wasserlöslichen Triphenyltetrazoliumchlorids (TTC) zum wasserunlöslichen, rotgefärbten Triphenylformazan (TPF). Die Konzentration von TPF kann kolorimetrisch bestimmt werden und ist ein Maß für die entsprechende Enzymaktivität.

In vier Reagenzgläser wurde jeweils 1 g feuchter Boden eingewogen. Zu drei Proben wurden jeweils 2 mL einer 0,5 %igen Lösung von TTC in 0,1 M Tris(hydroxymethyl)aminomethan-Puffer (pH 7,6) zugegeben. Die verbleibende vierte Probe diente als Blindprobe und wurde mit 2 mL Pufferlösung ohne TTC versetzt. Die Reagenzgläser wurden mit Gummistopfen verschlossen und 24 h

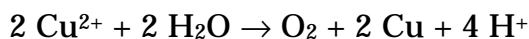
bei 25 °C inkubiert. Anschließend wurde das gebildete TPF mit 5 mL Aceton extrahiert. Nach Filtration wurde die Absorption der Lösungen bei $\lambda = 546$ nm gegen den Blindwert gemessen (MALKOMES, 1991). Für die Kalibrierung der Methode wurden Lösungen von TPF in Aceton mit Konzentrationen zwischen 0 und 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ verwendet. Die Ergebnisse wurden auf trockenen Boden normiert als $\mu\text{g TPF } 24 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ angegeben.



Bodenatmung

Der aerobe Abbau organischer Substrate durch Mikroorganismen im Boden ist ein sauerstoffverbrauchender Prozeß. Dieser Sauerstoffverbrauch wird in der Sapromat-Apparatur kontinuierlich gemessen und Abbauvorgänge somit zeitlich verfolgt.

Das Meßprinzip des Sapromaten basiert darauf, daß bei der Veratmung CO_2 in dem Maße freigesetzt wird, wie Sauerstoff verbraucht wird. Dieses CO_2 wird durch Natronkalk absorbiert. Der so entstandene Unterdruck im Probengefäß wird von der Apparatur registriert und durch elektrolytisch erzeugten Sauerstoff ausgeglichen.



Der dabei fließende Elektrolysestrom stellt die vom Sapromaten registrierte eigentliche Meßgröße dar, von der direkt auf die verbrauchte Sauerstoffmenge zurückgeschlossen werden kann.

3.5.3 Organischer Kohlenstoff

Zur Bestimmung des gesamten organischen Kohlenstoffgehalts (C_{org}) eines Bodens ist zunächst ein Austreiben des anorganischen Carbonatkohlenstoffs erforderlich. Dafür wurden etwa 3 g Boden so lange mit 12,5 %iger Salzsäure

versetzt, bis kein Schäumen mehr auftrat. Anschließend wurde die Probe auf einer Heizplatte bei 100 °C getrocknet, pulverisiert und nochmals 24 h im Trockenschrank bei 105 °C nachgetrocknet.

Der Kohlenstoffgehalt wurde durch Verbrennung von Aliquoten der vorbehandelten Probe im Sauerstoffstrom ermittelt. Bei einer Ofentemperatur von 900 °C und einem Sauerstofffluß von 200 mL min⁻¹ in der TOC-Bestimmungsgaratur wurde der gesamte in der Probe enthaltene Kohlenstoff zu CO₂ oxidiert. Dessen Gehalt wurde über einen nicht dispersiven IR-Detektor mit angeschlossenem Integrator erfaßt.

Die Kalibrierung des Geräts erfolgte durch Verbrennung unterschiedlicher Mengen von Oxalsäure.

3.5.4 Körnungsanalyse

Die Bestimmung der Bodentextur erfolgte am Institut für Geographie und Geoökologie der TU Braunschweig unter Anwendung der Sedimentationsmethode nach MOSCHREFI (1983).

25 g luftgetrockneter und auf < 2 mm gesiebter Boden wurden zunächst bei Raumtemperatur und anschließend bei 80 °C im Wasserbad mit 15 %iger H₂O₂-Lösung behandelt, um organische Substanz zu zerstören. Anschließend wurde filtriert und der Filtrationsrückstand mehrfach mit demineralisiertem Wasser gewaschen. Der so vorbehandelte Boden wurde in einer Natriumpyrophosphatlösung (0,1 M Na₂P₂O₇) dispergiert und die Suspension in das Sedimentationsgerät überführt. Die Trennung der Ton- und Schlufffraktionen beruht darauf, daß die Sedimentationsgeschwindigkeit eines Teilchens nach dem STOKES'schen Gesetz dem Quadrat seines Radius proportional ist. Die Sandfraktionen wurden im Anschluß durch Aussieben der Suspension bestimmt.

3.5.5 pH-Wert

Der pH-Wert eines Bodens wurde nach den Vorgaben der DIN 19684, Teil 1 ermittelt. 20 g luftgetrockneter Boden wurden in 50 mL einer 0,01 M CaCl₂-Lösung aufgeschlämmt. Nach wiederholtem Umrühren wurde die Aufschlammung zur Gleichgewichtseinstellung über Nacht stehengelassen. Die Messung des pH-Werts erfolgte mit einer pH-Glaselektrode in der Suspension.

3.6 Abbauxperimente

3.6.1 Feldversuche

Insgesamt vier Versuche zum Abbau von Prochloraz unter Feldbedingungen wurden in den Jahren 1995 und 1996 an beiden Versuchsstandorten durchgeführt. Es wurde dafür das Pflanzenschutzmittel Sportak Alpha® (AgrEvo, Berlin) eingesetzt, das als zweiten Wirkstoff Carbendazim enthält. Die Aufwandmengen variierten zwischen 210 g ha⁻¹ (NK, 1995), 300 g ha⁻¹ (NW, 1995 und NK, 1996) und 450 g ha⁻¹ (NW, 1996). Bei der Applikation wurde jeweils eine Kontrollparzelle (15 × 15 m² bis 18 × 30 m²) von der Behandlung ausgenommen. Während 1995 direkt in den Bestand gespritzt wurde, war dieser 1996 vor der Applikation auf vier Teilflächen von jeweils 1 × 1 m² (davon zwei im behandelten Bereich und zwei in der Kontrollparzelle) mit einer Rasenschere entfernt worden. Durch die direkte Bodenapplikation wurde eine ausreichende Wirkstoffkonzentration im Boden sichergestellt, um gegebenenfalls auch Metabolite bestimmen zu können, die nur in kleinen Mengen gebildet werden. Um eine Beeinflussung der Versuchsergebnisse des zweiten Jahres durch eine Prochloraz-Applikation im Vorjahr sicher auszuschließen, wurden die Versuche 1995 und 1996 an beiden Standorten jeweils auf unterschiedlichen Schlägen durchgeführt.

Proben wurden mit einem „Tulpenstecher“ aus der oberen Bodenschicht von 0-5 cm genommen. Jeweils vier Einzelproben aus dem behandelten Bereich und aus der Kontrollparzelle wurden zu einer Mischprobe vereinigt. Bei den Versuchen in 1996 wurden die Proben ausschließlich den bestandsfreien Teilflächen entnommen. Die erste Probenahme erfolgte wenige Stunden nach der Applikation mit Ausnahme von NK, 1996. Im weiteren Versuchsverlauf wurden Proben an folgenden Tagen nach dem Applikationstermin genommen: 1, 3, 7, 14, 28, 56 (NK, 1995); 1, 3, 7, 14, 28, 58 (NW, 1995); 1, 2, 5, 7, 14, 23, 57 (NK, 1996) und 1, 2, 5, 7, 14, 23, 56 (NW, 1996). Der Boden wurde anschließend im feldfeuchten Zustand auf < 2 mm gesiebt und bei -25 °C bis zur Analyse gelagert.

3.6.2 Laborversuche unter Lichtausschluß

Zur Untersuchung des Rückstandsverhaltens des Wirkstoffs Prochloraz, auch unter Einbeziehung von Mineralisation und Bildung nichtextrahierbarer Rückstände, diente eine Reihe von Laborversuchen unter standardisierten Bedingungen. Hierfür wurden unbehandelte Bodenproben aus der oberen Schicht

(0-5 cm) der jeweiligen Flächen an den Versuchsstandorten entnommen. Der Boden wurde auf eine Korngröße < 2 mm gesiebt, danach in Schalen ausgebreitet und bis zu seiner Verwendung im Dunkeln gelagert. Die mikrobielle Aktivität eines Bodens wird nach ANDERSON (1987) unter anderem durch Austrocknen oder zu lange Lagerung stark beeinträchtigt. Um dadurch bedingte Beeinflussungen der Versuchsergebnisse zu vermeiden, wurde der Boden während der Lagerung täglich befeuchtet, und die Lagerungsdauer betrug jeweils nur wenige Tage. In den Fällen, in denen ein umgehendes Ansetzen des Abbauersuchs nicht möglich war, wurde die mikrobielle Aktivität des Bodens während seiner Lagerung durch wiederholte Bestimmung seiner Dehydrogenaseaktivität (Kapitel 3.5.2) verfolgt.

Vor dem Einsatz im Versuch wurde der Wassergehalt des Bodens auf 40 % seiner maximalen Wasserkapazität (WK_{\max}) eingestellt, wie dies in den Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln (SCHINKEL *et al.*, 1986) angegeben ist. Die Dotierung erfolgte mit einer methanolischen Lösung von Prochloraz, die mittels einer Mikroliterspritze (nicht markierter Wirkstoff) bzw. einer Mikroliterpipette (^{14}C -markierter Wirkstoff) auf den Boden gegeben wurde. Durch anschließendes intensives Umschütteln wurde der Wirkstoff gleichmäßig verteilt, um eine Beeinträchtigung der Abbauleistung infolge punktförmiger Substanzabgabe (SKIDMORE *et al.*, 1994) zu vermeiden. Für den Vergleich von Konzentrationen im Boden mit Aufwandmengen pro Hektar wurde der von SCHINKEL *et al.* (1986) angegebene Umrechnungsfaktor $1 \mu\text{g kg}^{-1} \approx 1 \text{ g ha}^{-1}$ verwendet.

Abbauversuche mit nicht markiertem Prochloraz wurden in 250 mL-Erlenmeyerkolben durchgeführt, die während der Inkubationsdauer mit Wattestopfen bedeckt wurden, um einen Gasaustausch mit der Umgebungsluft zu gewährleisten. Wasserverluste wurden alle 3-4 Tage durch Differenzwägung ermittelt und durch Zugabe von demineralisiertem Wasser ausgeglichen.

Bei Versuchen mit ^{14}C -markiertem Wirkstoff kam eine nach RÜCKERT (1997) modifizierte OECD-Apparatur (OECD, 1981b) zum Einsatz. Pro festgesetztem Probenahmetermin wurde jeweils ein 300 mL-Erlenmeyerkolben mit einem Schliffaufsatz verschlossen, an dem ein Glasgefäß zur Aufnahme von 8 mL 0,1 M Kaliumhydroxid-Absorptionslösung befestigt war. Zwei mit Teflonküken verschließbare Hähne ermöglichten die Entnahme der Absorptionslösung mittels einer Spritze mit Kanüle und eine Belüftung des Kolbeninhalts ebenfalls mittels einer Spritze. Dabei wurde die aus dem Auslaßhahn austretende Luft durch einen Aktivkohlefilter (0,5 g) geleitet, um gegebenenfalls auftretende flüchtige organische Substanzen zurückzuhalten. Die Inkubation der Bodenproben erfolgte

bei konstant gehaltener Temperatur unter Lichtausschluß. An den dafür vorgesehenen Tagen wurde jeweils ein Kolben entnommen und bis zur Analyse der Bodenprobe bei -25 °C gelagert. Gleichzeitig wurden bei allen Ansätzen die Absorptionslösungen ausgetauscht und die Gefäße mit 300 mL Umgebungsluft belüftet. Nach Ende der ersten Woche wurden dieser Austausch der Kaliumhydroxid-Lösungen und die Belüftung der Proben wöchentlich durchgeführt.

Versuch mit nicht modifiziertem Boden und nicht markiertem Prochloraz

Je 50 g (Trockenmasse) des tonigen Schluffs aus Neuenkirchen (NK284) wurden mit 200 µg Prochloraz in 200 µL Methanol dotiert und im Dunkeln bei 20 ± 1 °C inkubiert. Die gewählte Dotierung entsprach etwa dem Neunfachen der praxisüblichen Aufwandmenge von 450 g ha⁻¹, um den Nachweis von Metaboliten auch bei einer Bildung in nur geringen Mengen zu ermöglichen. Die erste Probe wurde direkt nach der Dotierung entnommen, die weiteren Probenahmen erfolgten nach 2, 7, 14, 28 und 56 Tagen.

Zusätzlich wurden drei Bodenproben von je 50 g (Trockenmasse) NK284 inkubiert, von denen die erste nicht dotiert, die zweite mit 200 µL Methanol und die dritte mit 200 µg Prochloraz in 200 µL Methanol versetzt wurde. Durch wiederholte Bestimmung ihrer Dehydrogenaseaktivität (Kapitel 3.5.2) wurde der Verlauf der mikrobiellen Bodenaktivität über den Versuchszeitraum bestimmt.

Versuche mit nicht modifizierten Böden und ¹⁴C-markiertem Prochloraz

Im Rahmen eines ersten Abbaubersuchs mit ¹⁴C-markiertem Prochloraz wurden je 25 g (Trockenmasse) des Bodens NK284 mit dem Wirkstoff in methanolischer Lösung dotiert. Die dotierte Aktivität betrug jeweils 41 kBq, dies entsprach mit einer Prochloraz-Konzentration von 3100 mg kg⁻¹ Boden etwa dem Siebenfachen der praxisüblichen Aufwandmenge. Zur Kontrolle des Extraktionsverfahrens wurde die erste dotierte Probe ohne Inkubation direkt aufgearbeitet. Die übrigen Proben wurden bei 25 ± 1 °C inkubiert. Probenahmen erfolgten nach 2, 7, 14, 28, 56, 112 und 300 Tagen.

Zur Verfolgung der mikrobiellen Bodenaktivität über den Versuchszeitraum wurden drei Proben angesetzt, die zum einen nicht dotiert, zum anderen mit 65 µL Methanol bzw. mit 65 µg Prochloraz in 65 µL Methanol versetzt wurden, und deren Dehydrogenaseaktivität an verschiedenen Zeitpunkten während der Inkubation bestimmt wurde (Kapitel 3.5.2). Anhand dreier weiterer Proben von je 100 g (Trockenmasse) Boden NK284 wurde außerdem der Einfluß der Dotierung auf die Bodenatmung in der Sapromat-Apparatur ermittelt

(Kapitel 3.5.2). Wie bei der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität blieb eine dieser Proben undotiert, die zweite wurde mit 260 μL Methanol und die dritte mit 260 μg Prochloraz in 260 μL Methanol versetzt.

Bei zwei weiteren Abbauprobversuchen mit ^{14}C -markiertem Prochloraz kamen mit NK284 und NW212T3 die Böden der Versuchsflächen zum Einsatz, auf denen die Feldversuche in 1996 durchgeführt wurden. Jeweils 25 g (Trockenmasse) Boden wurden mit einer Aktivität von 40 kBq dotiert. Mit einer Prochloraz-Konzentration im Boden von 1100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ entsprach dies etwa dem 2,5-fachen der praxisüblichen Aufwandmenge. Um mikrobielle und chemische Abbauprobvorgänge zu beschleunigen wurde die Inkubationstemperatur auf $30 \pm 1^\circ\text{C}$ erhöht. Die Entnahme der einzelnen Proben erfolgte in beiden Fällen 1, 3, 7, 14 und 56 Tage nach Versuchsbeginn.

Versuche zum Einfluß des Gehalts an organischem Kohlenstoff

Die drei Böden NW101/a, NW101/b und NW101/c unterscheiden sich im wesentlichen nur in ihrem Gehalt an organischem Kohlenstoff. Sie wurden daher herangezogen, um den Einfluß dieses Parameters auf die Rückstandsdynamik von Prochloraz zu untersuchen. Die Dotierung der Bodenproben zu je 25 g (Trockenmasse) erfolgte mit einer Aktivität von 40 kBq entsprechend einer Prochloraz-Konzentration im Boden von 1100 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Sie wurden bei $30 \pm 1^\circ\text{C}$ inkubiert und die einzelnen Proben nach 3, 28 und 56 Tagen entnommen.

Versuche zum Einfluß der Bodentextur

Der Einfluß der Bodentextur, speziell des Tongehalts, auf die Rückstandsdynamik von Prochloraz wurde anhand des Bodens NK273 untersucht. Als Referenz diente der Boden NK284. Die entsprechenden Bodenproben wurden an demselben Tag entnommen, um jahreszeitliche und/oder witterungsbedingte Einflüsse auf die mikrobielle Bodenaktivität auszuschließen. Von NK273 wurden drei Bodenproben zu je 25 g (Trockenmasse) dotiert und inkubiert wie bereits bei den Versuchen zum Einfluß des Gehalts an organischem Kohlenstoff beschrieben. Beim korrespondierenden Referenzboden NK284 wurde eine Probe von 25 g (Trockenmasse) bis zum Versuchsende nach 56 Tagen inkubiert.

Versuche zum Einfluß der mikrobiellen Aktivität

Um den Einfluß der mikrobiellen Bodenaktivität auf die Rückstandsdynamik von Prochloraz zu bestimmen, wurden zwei Ansätze verfolgt. Zum einen wurde der Boden NK284 mit 1 % gemahlenem Triticale-Stroh versetzt und sechs Wochen

bei 30 ± 1 °C vorinkubiert. Anschließend wurde die Dehydrogenaseaktivität (Kapitel 3.5.2) dieses nährstoffangereicherten Bodens mit derjenigen einer nicht angereicherten, mitinkubierten Kontrolle verglichen. Der Wassergehalt des angereicherten Bodens betrug nach der Vorinkubation 60 % WK_{max} und wurde auch während des eigentlichen Abbaubersuchs bei diesem Wert belassen. Dotierung und Inkubation der drei Proben zu 25 g (Trockenmasse) erfolgten ansonsten wie bereits beschrieben.

Zum anderen wurden zwei Abbaubersuche mit den Böden NK284 und NW212T3 unter sterilen Bedingungen durchgeführt. Die Sterilisation der Böden sowie der verwendeten Geräte und Absorptionslösungen erfolgte mit Wasserdampf bei 130 °C im Autoklaven in drei Durchgängen zu jeweils 15 min. Die Abbaubersuche mit Prochloraz wurden in der bereits beschriebenen Weise durchgeführt, allerdings wurde auf die Entnahme einer Probe nach 3 Tagen bei beiden Experimenten verzichtet.

3.6.3 Laborversuche unter UV-Bestrahlung

Vorversuche mit einer handelsüblichen „Heimsonne“

Jeweils 25 g getrockneter Boden NK284 und NW212T3 wurden in eine Petrischale gegeben. Die Dotierung erfolgte mit einer Lösung von ¹⁴C-Prochloraz in 2 mL Wasser, die durch eine Verdünnung der entsprechenden methanolischen Standardlösung erhalten wurde. Die wäßrige Lösung wurde gleichmäßig über die Bodenoberfläche verteilt. Wie bei den zuletzt beschriebenen Abbaubersuchen unter Lichtausschluß betrug die dotierte Aktivität 40 kBq, was einer Prochloraz-Konzentration von 1100 µg kg⁻¹ Boden und somit dem 2,5-fachen der praxisüblichen Aufwandmenge entsprach. Bei einer Umgebungstemperatur von 20 ± 1 °C wurden die Ansätze danach 24 h mit einer handelsüblichen „Heimsonne“ aus einer Entfernung von etwa 40 cm bestrahlt. Zum Ausgleich von Verdampfungsverlusten wurden dabei nach 12 h jeweils 4 mL Wasser zu jedem der beiden Ansätze gegeben. Nach dem Ende der Bestrahlung wurden die Bodenproben in Erlenmeyerkolben überführt und bis zur Analyse bei -25 °C gelagert.

Versuche mit der geschlossenen Bestrahlungsapparatur

Da das in den Vorversuchen verwendete offene System keine Bilanzierung gestattet, wurde eine Apparatur entwickelt, die Inkubation und Bestrahlung einer Bodenprobe in einem geschlossenen System ermöglicht. Diese Apparatur

bestand aus einem Glasrohr mit einem eingeschmolzenen Gefäß zur Aufnahme von 8 mL 0,1 M Kaliumhydroxid-Absorptionslösung, zwei Hähnen für die Entnahme der Absorptionslösung und die Belüftung der Apparatur, einer mit einem Schliffstopfen verschließbaren Öffnung sowie einer weiteren Öffnung für die UV-Lampe. Dabei handelte es sich um einen Quecksilber-Mitteldruckstrahler in einem Kühlmantel aus Quarzglas, der für spätere Versuche durch einen Pyrex®-Kühlmantel ersetzt wurde (Abbildung 3.1). Zur Regelung der Bestrahlungsdauer wurde die Lampe an eine Zeitschaltuhr angeschlossen.

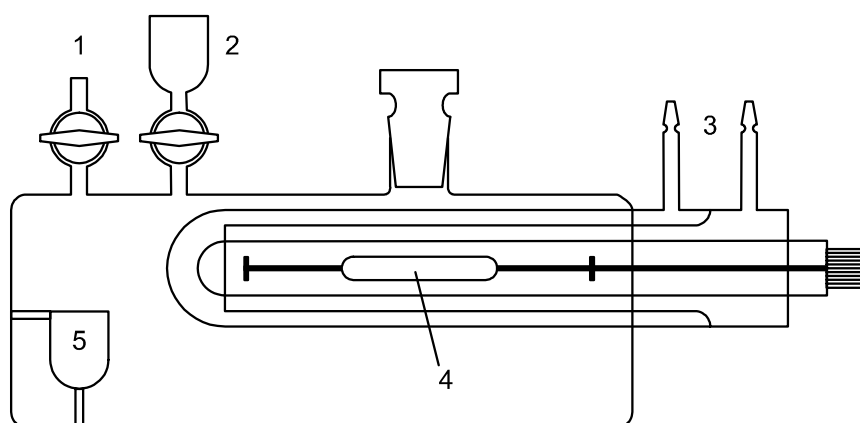


Abbildung 3.1

Apparatur für Radiotracer-Batchexperimente unter UV-Bestrahlung (1: Einlaßventil, 2: Auslaßventil mit Aktivkohlefilter, 3: Wasserkühlung für UV-Lampe, 4: Hg-Mitteldruckstrahler mit Kühlmantel, 5: Behälter für KOH-Absorptionslösung)

Die ersten beiden Abbauxperimente wurden unter Verwendung des Quarzglas-Kühlmantels mit den Böden NK284 und NW212T3 durchgeführt. Analog den Abbauxversuchen unter Lichtausschluß wurden 25 g (Trockenmasse) Boden mit einer Feuchtigkeit von 40 % WK_{\max} mit einer methanolischen Lösung von ^{14}C -markiertem Prochloraz dotiert (40 kBq entsprechend $1100 \mu\text{g kg}^{-1}$ Boden). Innerhalb der gesamten Inkubationsdauer von etwa 16 h wurde der Boden zweimal jeweils 4 h bestrahlt mit einer dazwischenliegenden Pause von ebenfalls 4 h. Die Umgebungstemperatur betrug 20 ± 1 °C. Zusätzlich wurde jeweils ein unbestrahltes Kontrollexperiment unter sonst gleichen Bedingungen mit beiden Böden durchgeführt.

Da in der Realität der kurzwellige Anteil des UV-Lichtes durch die Atmosphäre weitgehend abgeschirmt wird, wurde bei weiteren Versuchen ein Kühlmantel aus Pyrex®-Glas eingesetzt, dessen Cut-off bei $\lambda = 290$ nm liegt. Bei ansonsten gleichen Bedingungen wie oben beschrieben wurden Abbauxversuche

mit folgenden Bestrahlungsintervallen und Inkubationszeiten durchgeführt: 8 h UV in 4 h-Intervallen innerhalb von 16 h sowie 14 h UV in 15 min-Intervallen innerhalb von 40 h, jeweils mit beiden Böden NK284 und NW212T3. Bei den beiden zuletzt angesprochenen Experimenten wurde der durch die Wärmeentwicklung der Lampe bedingte Wasserverlust des Bodens nach 24 h durch Zugabe von demineralisiertem Wasser ausgeglichen.

Weiterhin wurde der Einfluß der mikrobiellen Bodenaktivität auf den Prochloraz-Abbau unter UV-Bestrahlung untersucht, indem in zwei Experimenten zum einen feldfrischer Boden NK284 und zum anderen im Autoklaven bei 130 °C sterilisierter Boden NK 284 eingesetzt wurden. Die Dotierung erfolgte jeweils wie oben beschrieben. Die Dauer der UV-Bestrahlung betrug jeweils 24 h in 15 min-Intervallen über einen Inkubationszeitraum von 66 h. Auch bei diesen Experimenten wurde der durch die Bestrahlung bedingte Wasserverlust des Bodens alle 24 h ausgeglichen.

Einfluß der UV-Bestrahlung auf die mikrobielle Aktivität

Um eine Aussage darüber treffen zu können, inwieweit die mikrobielle Bodenaktivität durch die UV-Bestrahlung beeinträchtigt wurde, wurden die Dehydrogenaseaktivitäten dreier Bodenproben miteinander verglichen (Kapitel 3.5.2). Zum Zeitpunkt dieses Versuchs stand ein feldfrischer Boden vom BBA-Standort Sickte mit ähnlichen Eigenschaften wie NK284 zur Verfügung. Eine Bodenprobe wurde entsprechend den oben beschriebenen Abbauversuchen unter UV-Bestrahlung über Nacht bei 20 ± 1 °C in der Bestrahlungsapparatur inkubiert und dabei 8 h in zwei 4 h-Intervallen bestrahlt, wobei der Quarzglas-Kühlmantel der UV-Lampe zum Einsatz kam. Eine weitere Bodenprobe wurde über den gleichen Zeitraum in einem verschlossenen Erlenmeyerkolben bei 30 ± 1 °C im Dunkeln inkubiert. Als Referenzwert diente die Dehydrogenaseaktivität des in der Vorratsschale gelagerten Bodens.

3.7 Abfallbehandlung und Arbeitssicherheit

3.7.1 Arbeiten mit nicht markierten Substanzen

Bei den im Rahmen der rückstandsanalytischen Untersuchungen anfallenden Abfällen handelte es sich vornehmlich um Lösemittel. Das Einengen von Probenextrakten am Rotationsverdampfer ergibt häufig Lösemittelgemische, bei

denen ein Recycling mit vertretbarem Aufwand nicht möglich ist. Diese Abfälle wurden in den dafür vorgesehenen Behältern gesammelt und letztlich zusammen mit den übrigen Lösemittelabfällen der chemischen Institute der TU Braunschweig durch einen Entsorgungsbetrieb verbrannt. Aceton, das zum Spülen von Glasgeräten vor deren Einsatz verwendet wurde, wurde gesondert gesammelt und als „technisches“ Lösemittel für allgemeine Reinigungszwecke eingesetzt.

Das in der GPC verwendete Lösemittelgemisch Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v) (Kapitel 3.3.1) wurde vollständig von allen anderen Lösemittelströmen getrennt. Vorlauf- und Nachlaufraktionen, Spüllösungen sowie das am Rotationsverdampfer von den Analytfraktionen abgezogene Lösemittelgemisch wurden gesondert gesammelt und durch Rektifikation gereinigt. Das dabei erhaltene Azeotrop Cyclohexan/Ethylacetat 44:56 (v/v) wurde durch Zugabe einer entsprechenden Menge von Cyclohexan auf ein Volumenverhältnis von 1:1 eingestellt und konnte danach wieder uneingeschränkt für rückstandsanalytische Untersuchungen verwendet werden (BITTNER *et al.*, 1993).

Das beim Einschlämmen von Kieselgel in Glassäulen verwendete n-Heptan (Kapitel 3.2.1) wurde ebenfalls getrennt aufgefangen. Da es während des Aufschlammvorgangs nur mit gereinigten Glasgeräten und reinem Sorbens in Berührung kam, konnte es ohne Aufreinigungsmaßnahmen für den gleichen Zweck wiederverwendet werden.

An festen Abfällen fielen im Rahmen der rückstandsanalytischen Arbeiten extrahierter, mit Filtrierhilfsmittel vermischter Boden, Natriumsulfat und Kieselgel an. Nach dem Abdampfen noch anhaftender Lösemittelreste unter dem Abzug wurden diese Feststoffe gemeinsam mit dem Hausmüll entsorgt. Um die Freisetzung von Feinstäuben zu vermeiden, wurden die Kieselgelrückstände zuvor angefeuchtet und in einen Kunststoffbeutel verpackt. Die beim Sieben der untersuchten Böden verbliebenen Fraktionen > 2 mm sowie nicht verwendete Bodenproben wurden wieder an die jeweiligen Entnahmeorte zurückgebracht. Wäßrige Phasen aus der Flüssig/flüssig-Verteilung wurden zum Abdampfen von Lösemittelresten unter dem Abzug stengelassen und anschließend über die Kanalisation entsorgt.

Bei Derivatisierungsreagentien handelt es sich um sehr reaktive und somit zumeist auch toxische Substanzen. Daher waren beim Umgang entsprechende Schutzmaßnahmen, wie z.B. das Tragen von Schutzhandschuhen, einzuhalten. Üblicherweise führt bereits die Aufarbeitung nach abgeschlossener Derivatisierungsreaktion zu einer Desaktivierung der jeweiligen Reagentien, so daß die Reaktionsrückstände ohne weitere Bearbeitung gemeinsam mit den Lösemittelabfällen entsorgt werden konnten. Bei der Methylierung mit Diazomethan

mußte nicht umgesetztes MNNG vor der Entsorgung mit 0,1 M HCl neutralisiert werden.

3.7.2 Arbeiten mit Radiotracern

Grundlage sowohl für zusätzliche Arbeitsschutzmaßnahmen beim Arbeiten mit ^{14}C -markierten Substanzen als auch für die Entsorgung entsprechender Abfälle sind die Strahlenschutzverordnung (StrlSchV) in ihrer Fassung von 1989, die gewerbeaufsichtliche Umgangsgenehmigung, und die besondere Strahlenschutzanweisung des Instituts für Ökologische Chemie und Abfallanalytik, die auf den allgemeinen Grundlagen des Strahlenschutzes basieren.

Generell wurde bei allen Arbeiten darauf geachtet, die eingesetzte Radioaktivitätsmenge so gering wie möglich zu halten, um sowohl den Entsorgungsaufwand als auch die Freisetzungswahrscheinlichkeit zu minimieren. Die β -Strahlung weist nur eine geringe Energie und Reichweite auf, so daß eine direkte Gefährdung durch Strahlenexposition lediglich beim Umgang mit großen Radioaktivitätsmengen ($> 5 \text{ MBq}$) durch Bremsstrahlungsprozesse erfolgen kann. Dies war während der Arbeiten nur der Fall, als die von der Firma Campro Scientific (Emmerich) bezogene Standardlösung von $10 \text{ MBq } ^{14}\text{C}$ -Prochloraz zu verdünnen war. Da die Energie der Bremsstrahlung der Energie der zugrundeliegenden β -Strahlung proportional ist, handelte es sich hier um eine niederenergetische γ -Strahlung, die durch Ummantelung des Gefäßes mit 1-2 mm Aluminiumfolie abgeschirmt werden konnte. Bedeutsamer ist beim Umgang mit offenen radioaktiven Strahlen das Expositionsrisiko durch Inkorporation. Um eine Einatmung flüchtiger oder partikelgebundener radioaktiver Stoffe zu vermeiden, wurden Arbeiten, bei denen eine Freisetzung solcher Stoffe möglich erschien, unter einem Spezialabzug mit Aktivkohlefilter durchgeführt. Beim Umgang mit radioaktiven Stoffen wurden stets Schutzhandschuhe getragen. Die Arbeitsflächen wurden unmittelbar nach dem Abschluß derartiger Tätigkeiten mit einem Flächenkontaminationszähler überprüft.

Lösungen und Feststoffe waren nach Maßgabe der institutsinternen Vorschriften dann als radioaktiver Sonderabfall zu entsorgen, wenn ihre Aktivitäten $1,67 \text{ Bq mL}^{-1}$ bzw. $1,67 \text{ Bq g}^{-1}$ überschritten. Um jedweden Austrag von Radioaktivität über die Kanalisation zu vermeiden, wurden alle mit Radiotracern in Kontakt gekommenen wäßrigen Lösungen als entsprechend kontaminiert eingestuft. Brennbare organische Lösemittel, gefüllte LSC-Vials sowie feste und wäßrige Rückstände wurden getrennt in dafür vorgesehenen Behältern

gesammelt und an einen sachkundigen Entsorgungsdienst (Amersham Buchler, Braunschweig) abgegeben.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Rückstandsanalytische Bestimmung von Prochloraz und seinen Metaboliten

4.1.1 Versuche zur Bestimmung mittels Gaschromatographie (GC)

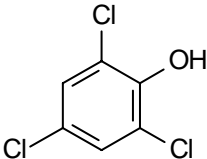
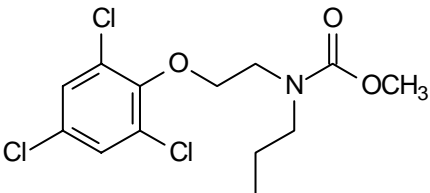
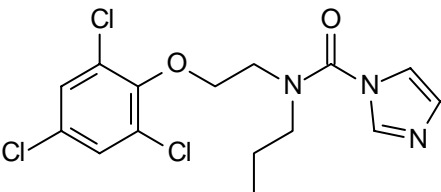
Analytik mit GC/MS

Um das Verhalten von Prochloraz während der GC zu überprüfen, wurden Standardlösungen des Wirkstoffs untersucht. Dabei wurde für die Probenaufgabe anstelle der explosionsartigen Verdampfung im Split/splitless-Injektor die substanzschonendere temperaturprogrammierte Probenverdampfung (Kalt-aufgabesystem, KAS) ausgewählt, und die Detektion erfolgte mittels Massenspektrometrie mit negativer chemischer Ionisation (NCI). Bei dieser Technik erfolgt die Ionisation der zu untersuchenden Moleküle mit thermischen Elektronen, die aus einem Reaktandgas freigesetzt werden. Die schonenderen Ionisationsbedingungen führen zu einer geringeren Fragmentierung im Vergleich zur Elektronenstoßionisation (EI), so daß häufiger Molekülionen beobachtet werden können.

Das Totalionenchromatogramm von Prochloraz nach Einspritzen einer methanolischen Standardlösung enthielt drei Peaks. Durch Auswertung der aufgenommenen Massenspektren konnten den entsprechenden Substanzen Molekülmassen von 196, 339 und 375 amu zugeordnet werden. Weiterhin wiesen alle Substanzen das charakteristische Isotopenmuster von drei Cl-Atomen auf. Demnach handelte es sich bei der zuletzt eluierten Substanz mit der größten Molekülmasse um Prochloraz und bei der zuerst eluierten Substanz mit der kleinsten Molekülmasse um sein Thermolyseprodukt 2,4,6-Trichlorphenol. Die Molekülmasse der dritten Substanz war jedoch nicht durch einen einfachen Zerfall von Prochloraz zu erklären. Geht man von einer Abspaltung des Imidazol-1-carboxamid-Rests unter der thermischen Belastung im Injektor aus, ergibt sich die Möglichkeit einer Anlagerung des im großen Überschuß vorhandenen Lösemittels Methanol. Die berechnete Molekülmasse eines solchen Carbamats

Tabelle 4.1

Molekülonen und zugeordnete Substanzstrukturen bei der GC/MS-Analyse einer methanolischen Lösung von Prochloraz (aufgelistet in der Reihenfolge der Elution)

m/z	Substanz
196	 2,4,6-Trichlorphenol
339	 <i>N</i> -Propyl- <i>N</i> -[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl]methylcarbamate
375	 <i>N</i> -Propyl- <i>N</i> -[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl]imidazol-1-carboxamid

entspricht den tatsächlich gefundenen 339 amu für die als zweite eluierende Substanz (Tabelle 4.1).

Um die Annahme einer Reaktion des Lösemittels mit einem Fragment der thermolytischen Spaltung von Prochloraz zu bestätigen, wurden Standardlösungen sowohl in verschiedenen Alkoholen als auch den nichtprotischen Lösemitteln Ethylacetat und 2,2,4-Trimethylpentan angesetzt und unter den gleichen Bedingungen mittels GC/MS mit NCI analysiert. Bei Ethylacetat traten in den Chromatogrammen lediglich die Peaks von 2,4,6-Trichlorphenol und Prochloraz auf, während bei 2,2,4-Trimethylpentan anstelle von 2,4,6-Trichlorphenol ein unbekanntes Thermolyseprodukt mit dem schwersten detektierten Ion bei $m/z = 245$ nachgewiesen wurde. Hingegen kam bei allen eingesetzten Alkoholen stets ein weiterer Substanzpeak hinzu. Die Masse des zugehörigen Molekülonen setzte sich dabei in allen Fällen zusammen aus den Massen des Prochloraz-Fragments nach Abspaltung des Imidazol-Rests und des jeweiligen Alkoholat-Anions (Tabelle 4.2).

Eine quantitative Bestimmung von Prochloraz über eines dieser Carbamate erwies sich als nicht möglich. Obwohl die Zahl der im GC-Injektor gebildeten thermischen Artefakte gering war, waren die Verhältnisse ihrer Peakflächen zueinander auch bei mehrfach aufeinanderfolgender Einspritzung einer einzigen Standardlösung nicht ausreichend reproduzierbar für eine zuverlässige Quantifizierung.

Tabelle 4.2

Retentionszeiten (RT) und Molekülionen der zusätzlichen Thermolyseprodukte von Prochloraz bei der GC/MS-Analyse verschiedener alkoholischer Standardlösungen (weitere auftretende Substanzpeaks: 10:25 min, $m/z = 196$ - 2,4,6-Trichlorphenol; 16:41 min, $m/z = 245$ - unbekannte Substanz; 26:06 min, $m/z = 375$ - Prochloraz)

Lösemittel	RT [min]	m/z
Methanol	20:01	339
Ethanol	20:29	353
2-Propanol	20:31	367
1-Butanol	22:11	381
1-Octanol	25:31	437
Benzylalkohol (1/9 in Ethylacetat)	25:52	415

Bei der GC/MS-Untersuchung der Substanzen Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff jeweils in methanolischer Lösung konnte in beiden Fällen nur das Zerfallsprodukt 2,4,6-Trichlorphenol massenspektrometrisch nachgewiesen werden. Nachdem Methanol als Lösemittel durch Ethylacetat ersetzt worden war, trat bei Prochloraz-Formylharnstoff ein zweiter Substanzpeak auf. In dessen Massenspektrum deutete ein Fragmentation mit $m/z = 196$ und dem für 3 Cl-Atome typischen Isotopenmuster auf das Vorhandensein des 2,4,6-Trichlorphenoxy-Rests im entsprechenden Molekül hin. Das größte detektierte Ion mit $m/z = 245$ enthielt nach seiner Isotopenverteilung nur 2 Cl-Atome und kam somit nicht als Molekülion in Frage. Hingegen lieferte Prochloraz-Harnstoff auch bei Einspritzung in Ethylacetat weiterhin nur einen Peak von 2,4,6-Trichlorphenol.

Um an dieser Stelle zu Vergleichszwecken das massenspektrometrische Verhalten der untersuchten Substanzen ohne vorherige GC zu ermitteln, wurden ihre Massenspektren (EI, PCI, NCI) mittels Direkteinlaß aufgenommen. Die NCI-Spektren sowohl von Prochloraz-Formylharnstoff als auch von Prochloraz-Harnstoff wiesen jeweils ein deutlich erkennbares Molekülion sowie charakteristische Fragmente auf. Da derartige Spektren bei den GC/MS-Unter-

suchungen der beiden Prochloraz-Metabolite nicht gefunden wurden, bestätigt dies die Annahme, daß diese Verbindungen aufgrund der thermischen Belastung bereits im GC-Injektor oder spätestens auf der Säule vollständig zerfallen.

Analytik mit GC/ECD

Bei der Analyse einer methanolischen Prochloraz-Standardlösung mittels GC/ECD unter Verwendung eines Split/splitless-Injektors wurden analog der GC/MS-Bestimmung mit KAS drei Substanzpeaks erhalten. Peakmuster und Retentionszeiten lassen den Schluß zu, daß es sich auch hier um 2,4,6-Trichlorphenol, *N*-Propyl-*N*-[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl]methylcarbamat und Prochloraz selbst handelte. Nachdem das Lösemittel Methanol durch Ethylacetat ersetzt wurde, war keine Carbamatbildung mehr zu beobachten, der teilweise Zerfall von Prochloraz zu 2,4,6-Trichlorphenol konnte so jedoch nicht verhindert werden.

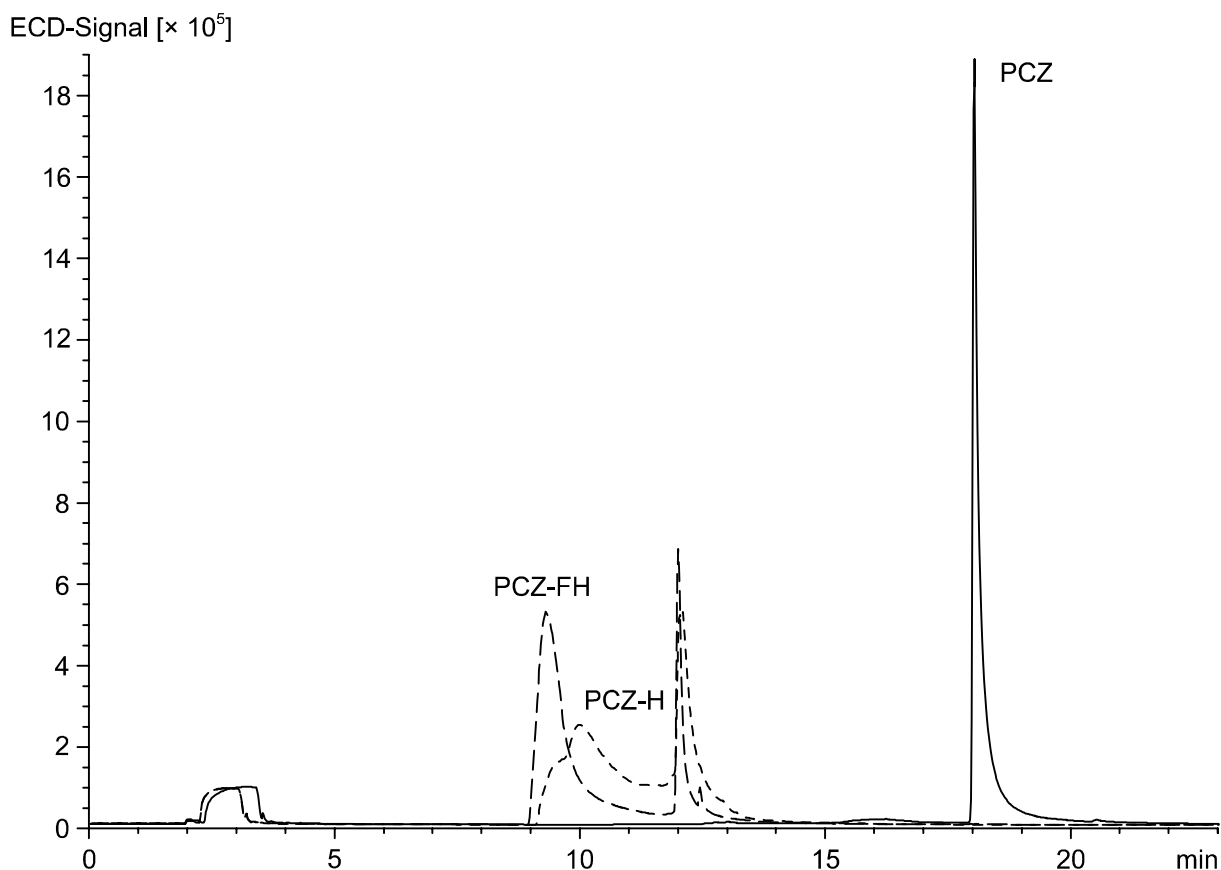


Abbildung 4.1

GC/ECD-Chromatogramme von Prochloraz (PCZ; —), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH; — —) und Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H; - - -) nach Einspritzung von Standardlösungen ($10 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$) in Ethylacetat unter Einsatz der On column-Injektion

Als schonendste Injektionsmethode stand beim GC/ECD zusätzlich die On column-Injektion zur Verfügung. Dabei wird der Extrakt direkt in die Säule oder eine vorgeschaltete „Retention gap“ injiziert und diese dann zeitprogrammiert aufgeheizt. In methanolischer Lösung lieferte Prochloraz wiederum ein Chromatogramm mit drei Substanzpeaks, wobei allerdings bei der vergleichenden Betrachtung der Peakflächen im Unterschied zur Split/splitless-Injektion bereits eine deutlich geringere Zerfallsneigung festgestellt wurde. Im aprotischen Lösemittel Ethylacetat konnte auf diese Weise schließlich eine zersetzungsfreie Chromatographie von Prochloraz erreicht werden (Abbildung 4.1).

Im Gegensatz dazu ließen sich die Metabolite Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff auch unter diesen schonenden Injektionsbedingungen nicht ohne thermische Zersetzung chromatographieren. Bei Prochloraz-Harnstoff war sowohl in Methanol als auch in Ethylacetat das gleiche Muster von mehreren stark verbreiterten und sich überlappenden Peaks zu beobachten. Bei Prochloraz-Formylharnstoff enthielt das Chromatogramm einer Lösung in Ethylacetat zwar weniger stark deformierte Peaks als das Chromatogramm einer methanolischen Lösung, jedoch blieb auch hier das prinzipielle Problem eines weitgehenden thermischen Zerfalls des Analyten bestehen (Abbildung 4.1).

Schlußfolgerungen

Bezogen auf Split/splitless-Injektion und Kaltaufgabesystem bestätigten die Untersuchungen zur Analytik mittels Gaschromatographie die Aussage von BAUMANN *et al.* (1991), die Prochloraz als nicht GC-analysierbar eingestuft hatten. Die zersetzungsfreie Chromatographie des Wirkstoffs bei Einsatz der On Column-Injektion steht im Einklang mit den Ergebnissen, die BRODESSER *et al.* (1990) mit einem solchen System erhielten. Allerdings ist diese Technik für stark matrixbelastete Proben weniger gut geeignet als die anderen Injektionsverfahren. Zudem ließ die selbst unter diesen Bedingungen beobachtete thermische Zersetzung von Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff keinen Einsatz der Gaschromatographie für die Simultanbestimmung von Prochloraz und Metaboliten zu. In diesem Zusammenhang konnte der Verweis von SILTANEN *et al.* (1989) auf die S19-Multimethode für den Nachweis von Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff nicht nachvollzogen werden. Da auch Versuche zur Derivatisierung dieser Substanzen erfolglos blieben (Kapitel 4.1.3), wurde die GC nicht mehr in die weitere Methodentwicklung einbezogen.

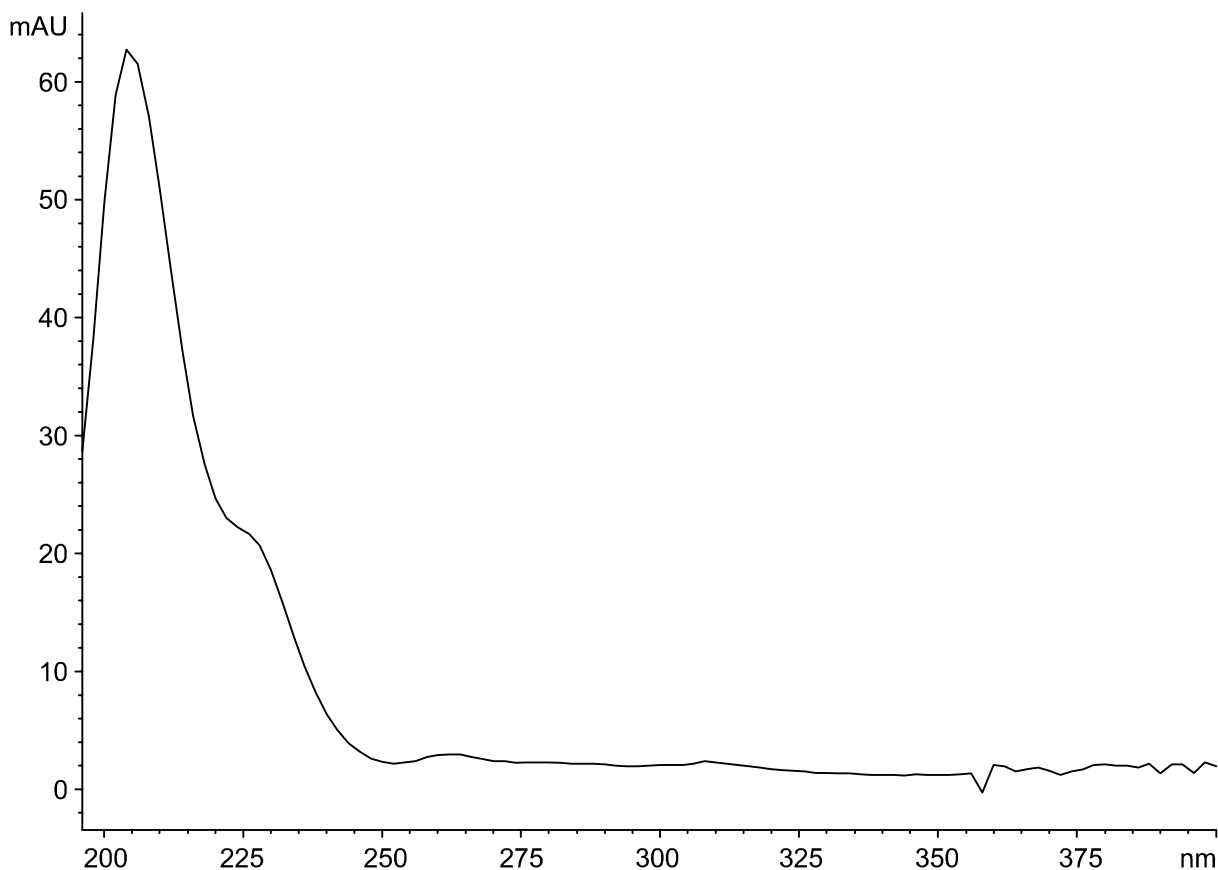
4.1.2 Bestimmung mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und Diodenarraydetektion (HPLC/DAD)

HPLC-Untersuchung des „6MIX“-Standards von Prochloraz und potentiellen Metaboliten

Neben Prochloraz selbst und den beiden Metaboliten Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff enthielt der „6MIX“-Standard zusätzlich 2-(2,4,6-Trichlorphenoxy)ethanol, 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure stellvertretend für die nicht verfügbare 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure sowie 2,4,6-Trichlorphenol. Diese Substanzen waren als weitere Abbauprodukte bei der Metabolisierung von Prochloraz in Ratten nachgewiesen worden (NEEDHAM und CHALLIS, 1991; LAIGNELET *et al.*, 1992). Sie wurden daher zunächst in die Untersuchungen zur Metabolisierung im Boden miteinbezogen.

Übereinstimmendes Strukturmerkmal aller Analyte ist der 2,4,6-Trichlorphenoxy-Rest, der als Chromophor für deren UV-Absorption verantwortlich ist. Das Absorptionsmaximum liegt bei $\lambda = 205$ nm. Zwar ist die Detektionsempfindlichkeit bei dieser Wellenlänge relativ hoch, jedoch geht dies auf Kosten der Selektivität, da viele Matrixbestandteile des Bodens in diesem niedrigen Wellenlängenbereich ebenfalls absorbieren. Aus diesem Grund wurde für die Detektion ein Diodenarraydetektor verwendet, der die Aufnahme kompletter UV-Spektren der chromatographisch getrennten Substanzen erlaubt. Die UV-Spektren der untersuchten Analyte weisen neben dem Absorptionsmaximum eine leichte Schulter bei $\lambda = 225$ nm auf (Abbildung 4.2). Anhand dieses Merkmals konnte eine qualitative Unterscheidung von Analyten und Matrixbestandteilen vorgenommen werden.

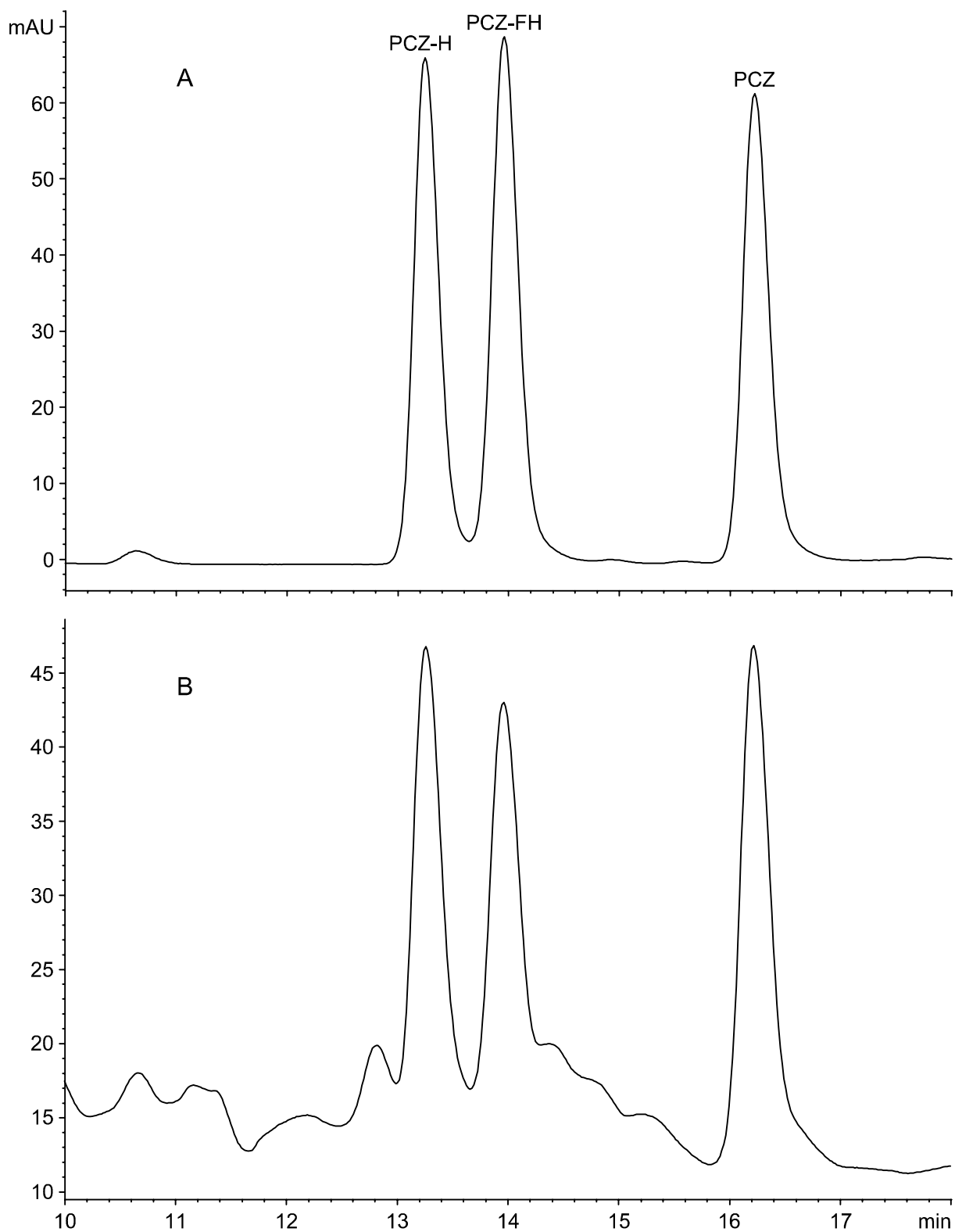
Als organischer Bestandteil des Fließmittels für die HPLC-Trennung wurde Acetonitril verwendet, das im Vergleich zu Methanol eine höhere UV-Durchlässigkeit bis hinab zu $\lambda = 195$ nm besitzt. Wegen der Acidität von 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure und 2,4,6-Trichlorphenol mußte das Fließmittel mit Phosphorsäure auf pH 2,5 eingestellt werden. Die verwendete RP-select B-Säule ermöglichte dabei auch die chromatographische Trennung der neutralen bis basischen Moleküle Prochloraz, Prochloraz-Formylharnstoff, Prochloraz-Harnstoff und 2-(2,4,6-Trichlorphenoxy)ethanol unter diesen extremen pH-Bedingungen.

**Abbildung 4.2**

UV-Spektrum von Prochloraz

HPLC-Untersuchung des „3MIX“-Standards von Prochloraz, Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff

Bei der Analyse von Bodenextrakten aus Abbauuntersuchungen mit Prochloraz stellte sich heraus, daß darin nur der Wirkstoff selbst sowie die beiden Metabolite Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff relevant waren. Daher konnte das Fließmittelsystem für diese neutralen bis basischen Substanzen dahingehend optimiert werden, daß sein pH-Wert mit einem Phosphatpuffer auf 8,0 eingestellt wurde. Der gewählte, von einem Acetonitril-Gehalt von 30 % ausgehende Gradient ermöglichte zum einen eine ausreichende Separation der Matrixbestandteile und gewährleistete zum anderen möglichst niedrige Retentionszeiten und damit geringe Peakverbreiterungen für die Analyte (Abbildung 4.3).

**Abbildung 4.3**

HPLC-Chromatogramme einer Standardlösung von 10 ng μL^{-1} (A) und eines Extraktes aus dem Feldversuch Neuenkirchen 1996 (B), (PCZ - Prochloraz; PCZ-FH - Prochloraz-Formylharnstoff; PCZ-H - Prochloraz-Harnstoff)

Bewertung des Analysenverfahrens

Die für die Qualität eines rückstandsanalytischen Verfahrens maßgeblichen Kenngrößen sind Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze. Für die Ermittlung dieser Kenngrößen sind Zusatzversuche erforderlich, bei denen rückstandsfreie Probenmatrix mit den zu analysierenden Substanzen in verschiedenen Konzentrationsstufen dotiert werden. Nach der DFG-Methode XI (DFG, 1991) ist die Nachweisgrenze definiert als der kleinste Gehalt eines Analyten in der Probe, dessen Signalwert sich mit 95 % Wahrscheinlichkeit von einem Signalwert unterscheidet, den der Gehalt „Null“ in einer Probe liefert. Dies hängt wesentlich vom Signal/Rausch-Verhältnis des aufgenommenen Chromatogramms ab. Die Bestimmungsgrenze ist als der Gehalt größer oder gleich der Nachweisgrenze festgelegt, bei dem die Wiederfindungsrate größer oder gleich 70 % und der

Tabelle 4.3

Wiedergefundene Substanzmengen in $\mu\text{g kg}^{-1}$ von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH) und Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H) bei Zusatzversuchen mit den Böden NK284 und NW212T3; Angabe der Wiederfindungsraten (WFR) mit der jeweiligen Standardabweichung

Versuch	PCZ-H	PCZ-FH	PCZ	WFR (PCZ-H)	WFR (PCZ-FH)	WFR (PCZ)
NK284 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$	10,9	14,4	6,2			
	2,4	4,7	4,7			
	1,6	5,3	6,2			
	8,0	12,0	4,4			
	4,0	15,3	6,0			
	4,0	8,2	5,6	(51 \pm 36) %	(100 \pm 46) %	(56 \pm 8) %
NK284 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$	43,6	40,2	38,0			
	43,1	38,9	34,7			
	42,0	37,8	33,1	(86 \pm 2) %	(78 \pm 2) %	(71 \pm 5) %
NW212T3 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$	8,7	12,2	4,7			
	7,8	10,7	4,7			
	7,8	10,2	4,7	(80 \pm 5) %	(111 \pm 10) %	(47 \pm 0) %
NW212T3 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$	16,2	16,9	16,0			
	20,0	25,8	14,7			
	22,4	15,8	13,1	(98 \pm 16) %	(98 \pm 27) %	(73 \pm 7) %
NW212T3 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$	35,8	42,4	32,7			
	39,1	45,8	35,8			
	38,0	46,0	34,4	(75 \pm 3) %	(89 \pm 4) %	(68 \pm 3) %

Variationskoeffizient bei mindestens vierfach wiederholter Bestimmung gleich oder kleiner als 20 % ist.

Bedingt durch sehr geringe Substanzspezifität der Absorption bei $\lambda = 205$ nm traten auch nach intensivem Clean-up der Extrakte noch Blindwerte in den Chromatogrammen auf, die auf mitextrahierte Bodenbestandteile zurückzuführen waren. Um Analytsignale sicher von Blindwertsignalen zu unterscheiden, wurden daher parallel zu allen Proben aus Feld-, Laborabbau- oder Zusatzversuchen entsprechende undotierte Bodenproben mituntersucht. Die Chromatogramme wurden getrennt ausgewertet und danach die in den dotierten Proben ermittelten Gehalte um die Blindwerte aus den Kontrollproben korrigiert. In Tabelle 4.3 sind so ermittelte Ergebnisse für Zusatzversuche mit den Böden NK284 und NW212T3 zusammengestellt.

Nach den Richtlinien der BBA für die Bewertung von Pflanzenschutzmitteln im Zusatzverfahren (BBA, 1992) muß eine geeignete Analysenmethode für einen Wirkstoff und seine Metaboliten eine Bestimmungsgrenze $\leq 50 \mu\text{g kg}^{-1}$ aufweisen. Die Ergebnisse der Zusatzversuche mit einer Dotierung von $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ belegen, daß diese Bedingung von der hier verwendeten Methode erfüllt wird. Die Wiederfindungsraten lagen wie gefordert zwischen 70 und 110 % bzw. bei Prochloraz in NW212T3 mit 68 % nur unwesentlich darunter, und die relativen Standardabweichungen waren jeweils deutlich niedriger als der vorgegebene Wert von maximal 20 %.

Der zunehmende Einfluß der Blindwerte bei niedrigeren Dotierungen äußerte sich zum Teil in niedrigeren Wiederfindungsraten, die in der Dotierungsstufe $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ für die drei Analyte zwischen 47 und 111 % mit Standardabweichungen zwischen 0 und 46 % betrugen. Insgesamt konnten die Zusatzversuche jedoch belegen, daß sich auch Analytkonzentrationen bis hinab zu $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ sicher von matrixbedingten Blindwerten unterscheiden und reproduzierbar quantifizieren lassen, wenn parallel zu den jeweiligen Proben entsprechende undotierte Kontrollproben analysiert werden. Das primäre Interesse bei Feld- und Laborabbauversuchen bestand in der Verfolgung der Konzentrationsverläufe des gezielt applizierten Wirkstoffs und seiner Metaboliten über den Versuchszeitraum. Die Größenordnungen der beobachteten Konzentrationsänderungen lagen dabei deutlich über dem Streubereich des Analysenverfahrens. Bei einer Festsetzung der unteren Grenze des praktischen Arbeitsbereiches auf $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ stellten die ermittelten Meßwerte somit in jedem Fall eine geeignete Grundlage für die Untersuchung der Rückstandsdynamik von Prochloraz dar.

4.1.3 Derivatisierungsreaktionen

Ziel der in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Derivatisierungsreaktionen mit den Prochloraz-Metaboliten Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff war es, zum einen den thermischen Zerfall dieser Substanzen in der GC (Kapitel 4.1.1) zu unterbinden, zum anderen über die Einführung von funktionellen Gruppen eine verbesserte Detektion in GC bzw. HPLC zu erreichen. Mittels Reaktionen an ihren polaren NH- bzw. NH_2 -Funktionen wurde versucht, flüchtige und thermostabile Derivate der beiden Metabolite zu erzeugen.

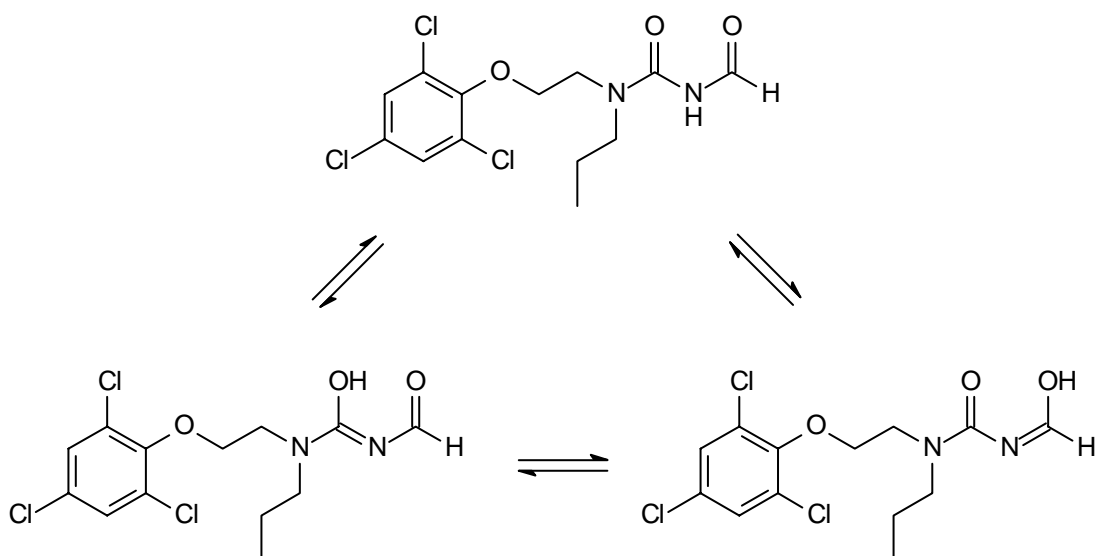
Prinzipiell sind für die zusätzlich angestrebte Erhöhung der Nachweisempfindlichkeit in der GC mit Elektroneneinfangdetektor insbesondere fluor- und chlorhaltige Derivatisierungsreagentien geeignet. Eine Empfindlichkeitssteigerung bei der HPLC wird durch Einführung geeigneter Chromo- oder Fluorophore erreicht. Entscheidende Kriterien für Derivatisierungsreaktionen sind eine hohe Reproduzierbarkeit und die Bildung eines einzigen Reaktionsprodukts mit möglichst quantitativer Ausbeute. Reste des Derivatisierungsreagens müssen einfach entfernbar sein, und die Detektion darf nicht durch Matrixeffekte oder derivatisierte Begleitsubstanzen beeinträchtigt werden.

Methylierung mit Diazomethan

Der NH-Gruppe in Prochloraz-Formylharnstoff sind zwei Carbonylfunktionen benachbart. Es wurde davon ausgegangen, daß aufgrund ihres Elektronenzugs das Proton am Stickstoff deutlich aciden Charakter besitzt, analog zur CH-Acidität bei 1,3-Dioxo-Verbindungen. Ein geeignetes Methylierungsmittel für derartige protonenaktive Zentren ist Diazomethan, dessen CH_2 -Rest dabei in einer Insertionsreaktion zwischen Heteroatom und Proton eingeschoben wird.

Die GC/ECD-Chromatogramme der verschiedenen durchgeführten Methylierungsansätze mit Standardlösungen von Prochloraz-Formylharnstoff wiesen jeweils mehrere Signale auf. Zu den Peaks, die auch bei Vergleichsuntersuchungen einer nicht methylierten Standardlösung dieses Metaboliten gefunden wurden, kamen unterschiedlich viele Peaks bei durchweg geringeren Retentionszeiten hinzu. Mögliche Erklärungen dafür sind eine Zersetzung der Ausgangsverbindung während der Reaktion oder der Zerfall eines Reaktionsproduktes bei der gaschromatographischen Trennung. Jedoch besteht auch die Möglichkeit, daß bei der Reaktion aufgrund von Tautomerie mehrere unterschiedliche Methylierungsprodukte entstanden waren. Ein derartiges Verhalten wurde von DIECKMANN *et al.* (1994) für den Herbizid-Metaboliten Desamino-Metamitron

bewiesen. Bei Prochloraz-Formylharnstoff können neben einem N-methylierten Produkt zwei verschiedene O-methylierte Produkte gebildet werden.



Eine Probe aus einem Methylierungsexperiment wurde am Institut für Lebensmittelchemie der TU Braunschweig mit einem HPLC/MS-Gerät mit Thermospray-Interface (TSP) analysiert. Neben dem Signal bei $m/z = 353$ für das $[M + H]^+$ -Ion von Prochloraz-Formylharnstoff wurde auch ein sehr viel kleineres Signal bei $m/z = 367$ gefunden, das möglicherweise dem $[M + H]^+$ -Ion eines Methylierungsprodukts zugeordnet werden kann. Bei beiden Signalen handelte es sich um für die Anwesenheit von drei Cl-Atomen charakteristische Cluster.

Zusätzlich zu den GC- und LC/MS-Untersuchungen wurden die Produkte der durchgeführten Methylierungsreaktionen mittels HPLC/DAD analysiert. Dabei wurden neben nicht umgesetztem Prochloraz-Formylharnstoff sowohl lipophilere als auch hydrophilere Substanzen in den Ansätzen nachgewiesen. Insgesamt verlief die Umsetzung von Prochloraz-Formylharnstoff mit Diazomethan also weder quantitativ noch unter Bildung eines einzelnen definierten Reaktionsprodukts, weswegen dieser Ansatz nicht weiterverfolgt wurde.

Methylierung mit Methyljodid

Um Harnstoffderivate trotz ihrer vergleichsweise geringen Reaktivität methylieren zu können, wird in der Methode von GREENHALGH und KOVACIKOVA (1975) das Hydrid-Anion als extrem basischer Katalysator eingesetzt. Unter diesen Bedingungen erwies sich Prochloraz-Formylharnstoff als nicht stabil, sondern wurde zu Prochloraz-Harnstoff hydrolysiert. Dementsprechend wurden die

Methylierungsversuche allein mit Standardlösungen von Prochloraz-Harnstoff durchgeführt.

Die Reaktionsprodukte aus den verschiedenen Ansätzen wurden zunächst mittels HPLC/DAD analysiert. In den Chromatogrammen traten bis zu drei Signale mit größerer Retentionszeit als die Ausgangsverbindung Prochloraz-Harnstoff auf (in der Reihenfolge steigender Lipophilie hier als A, B und C bezeichnet). Eine quantitative Umsetzung des Analyten wurde beobachtet, wenn DMSO oder ein Gemisch aus DMSO und n-Heptan als Lösemittel verwendet wurden. Dagegen verlief die Reaktion in n-Heptan oder Acetonitril nur unvollständig. Bei Verwendung des DMSO/n-Heptan-Gemischs führte die Reaktion unabhängig von der Reaktionsdauer zu etwa gleichen Mengen der beiden Produkte B und C. In DMSO allein wurde nach einstündigem Erhitzen nur Produkt B nachgewiesen, während nach einer Reaktionsdauer von 12 h neben B und C auch kleine Mengen des Produkts A auftraten. Letzteres war Hauptprodukt der unvollständigen Reaktion in n-Heptan (Abbildung 4.4).

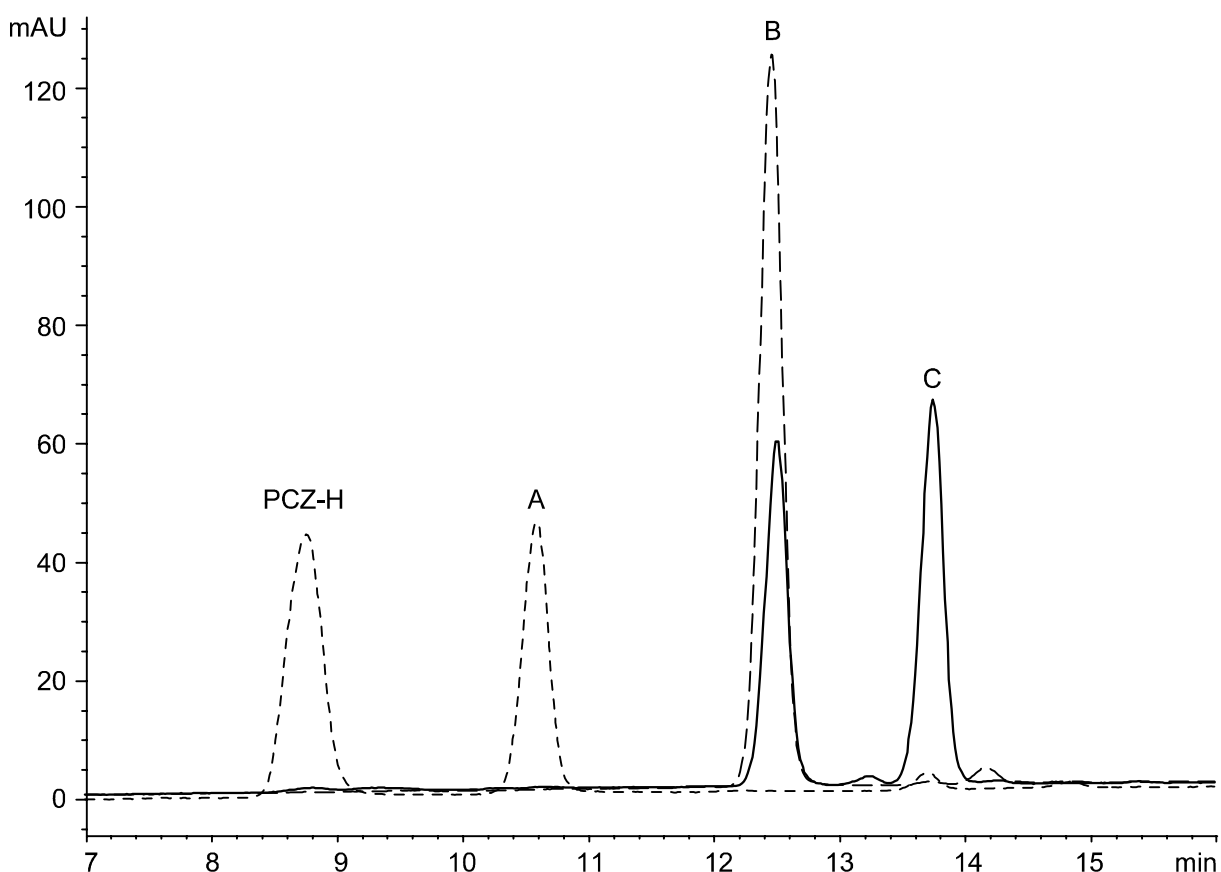


Abbildung 4.4

HPLC-Chromatogramme der Methylierungsexperimente mit Methyliodid/Natriumhydrid (- - - Reaktion in n-Heptan; — — Reaktion in DMSO; — — Reaktion in n-Heptan/DMSO; PCZ-H - Prochloraz-Harnstoff; A, B, C - Reaktionsprodukte)

Hinweise auf die chemische Identität der Reaktionsprodukte konnten durch Anwendung einer HPLC/MS-Kopplung mit Elektrospray-Interface (ESI) am Institut für Technologie der Kohlenhydrate der TU Braunschweig erhalten werden. Für Produkt A wurden für die Anwesenheit von 3 Cl-Atomen charakteristische Cluster bei $m/z = 339$ und $m/z = 361$ gefunden, entsprechend dem $[M + H]^+$ - und dem $[M + Na]^+$ -Ion einer Substanz mit einer Molekülmasse von 338 amu. Bei Produkt C wiesen Signale bei $m/z = 353$ und $m/z = 375$ auf eine Substanz mit einer Molekülmasse von 352 amu hin. Demnach handelt es sich bei A um ein einfach und bei C um ein doppelt methyliertes Derivat von Prochloraz-Harnstoff (324 amu). Die für Produkt B erhaltenen Massenspektren ließen keine Rückschlüsse auf die Identität dieser Substanz zu.

Die Methylierung mit Natriumhydrid und Methyljodid führt unter geeigneten Bedingungen zwar zu einer vollständigen Umsetzung des Analyten Prochloraz-Harnstoff, jedoch nicht zu einem einzigen Reaktionsprodukt. Zudem wird Prochloraz-Formylharnstoff unter den Reaktionsbedingungen hydrolysiert, so daß eine simultane Bestimmung beider Metabolite mit dieser Derivatisierungsmethode nicht möglich ist.

Acylierung mit Dinitrobenzoylchlorid

Bei der Reaktion mit Dinitrobenzoylchlorid (DNBC) wurde eine Standardlösung von Prochloraz, Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff eingesetzt. Von den drei Substanzen kam es nur bei Prochloraz-Harnstoff zu einer Umsetzung, die jedoch nicht vollständig war. Das HPLC/DAD-Chromatogramm des Ansatzes zeigte neben den Signalen der Ausgangskomponenten und solchen, die nach dem Vergleich mit einer Blindprobe dem Derivatisierungsreagens zuzuordnen waren, einen weiteren Peak im hinteren Retentionszeitbereich. Das zugehörige UV-Spektrum wies neben dem Hauptabsorptionsmaximum bei $\lambda = 204$ nm ein zweites Absorptionsmaximum bei $\lambda = 228$ nm auf. Bei der entsprechenden Substanz handelt es sich wahrscheinlich um ein lipophiles Reaktionsprodukt von Prochloraz-Harnstoff mit DNBC.

Acylierung mit Pentafluorbenzoylchlorid

Wie bei der Reaktion mit DNBC blieb Prochloraz-Formylharnstoff auch bei der durch Pyridin katalysierten Umsetzung mit Pentafluorbenzoylchlorid (PFBC) in Toluol weitestgehend unbeeinflußt. Die Untersuchung mittels HPLC/DAD wies nur bei Prochloraz-Harnstoff auf die Bildung eines sehr lipophilen Reaktionsprodukts hin. Eine Aussage über den Gehalt an Prochloraz-Harnstoff selbst

konnte nicht getroffen werden, da der zugehörige Peak von einem vom Derivatisierungsreagens herrührenden Signal überlagert wurde.

Die Verwendung von Triethylamin als Katalysatorbase oder Lösemittel führte nicht zu einer Verbesserung der Ergebnisse. Eine Umsetzung von Prochloraz-Harnstoff zu einem acylierten Derivat konnte nicht beobachtet werden. Stattdessen enthielten die Chromatogramme eine größere Anzahl kleinerer Peaks, die sich möglicherweise auf Verunreinigungen im Triethylamin oder auf teilweise Zersetzung unter den Reaktionsbedingungen zurückführen lassen.

Ein Derivatisierungsansatz mit Prochloraz-Harnstoff und PFBC in n-Heptan mit Pyridin als Katalysatorbase wurde im Institut für Technologie der Kohlenhydrate der TU Braunschweig mittels ESI-HPLC/MS untersucht. Aus dem für die Anwesenheit von 3 Cl-Atomen charakteristischen Signalcluster bei $m/z = 541$, entsprechend dem $[M + Na]^+$ -Ion einer Substanz mit einer Molekülmasse von 518 amu, konnte hergeleitet werden, daß es sich beim Reaktionsprodukt um einfach pentafluorbenzoylierten Prochloraz-Harnstoff handelte.

Acylierung mit Trifluoressigsäureanhydrid

Im Gegensatz zu den aromatischen Säurechloriden DNBC und PFBC konnte bei der Verwendung von Trifluoressigsäureanhydrid (TFAA) die Bildung eines Derivats nicht nachgewiesen werden. Wenn die Reaktion in n-Heptan in Anwesenheit katalytischer Mengen von Pyridin durchgeführt wurde, kam es offensichtlich zu einer säurekatalysierten Zersetzung von Prochloraz-Formylharnstoff. Auch die Konzentration an Prochloraz-Harnstoff im Reaktionsansatz war deutlich verringert, ohne daß entsprechende Reaktionsprodukte mittels HPLC/DAD nachweisbar waren. Durch Verwendung von Pyridin als Lösemittel wurde zwar die Zersetzung der Analyte vermieden, jedoch wurden unter diesen Bedingungen ebenfalls keine derivatisierten Produkte gefunden.

Acylierung mit Dansylchlorid

Während bei den Acylierungsreaktionen mit DNBC, PFBC und TFAA vornehmlich eine Verbesserung der gaschromatographischen Eigenschaften der Analyte angestrebt wurde, wurden die Versuche zur Umsetzung mit Dansylchlorid (DNSC) mit dem Ziel eines empfindlicheren und selektiveren Nachweises für die HPLC durchgeführt. Da bei den zuvor beschriebenen Acylierungsreaktionen keine Derivatisierung von Prochloraz-Formylharnstoff beobachtet worden war, wurde diese Substanz bei den Dansylierungsexperimenten nicht mehr miteinbezogen.

Unabhängig von den jeweiligen Reaktionsbedingungen war bei keiner der durchgeführten Derivatisierungsvarianten eine Umsetzung von Prochloraz-Harnstoff zu beobachten. In den HPLC/DAD-Chromatogrammen traten außer dem Signal der Ausgangssubstanz nur die Peaks auf, die auch bei der Analyse entsprechender Blindproben beobachtet wurden. Zu Vergleichszwecken wurden daher zusätzliche Derivatisierungsexperimente mit 2,4,5-Trichloranilin und 2,4,6-Trichlorphenol durchgeführt. Die Tatsache, daß 2,4,5-Trichloranilin weder bei der durch Pyridin katalysierten Reaktion in Toluol noch bei der Umsetzung in Aceton in Gegenwart von Na_2CO_3 dansyliert wurde, bestätigt die mangelnde Reaktivität selbst aktivierter NH-Funktionen unter diesen Bedingungen. Zwar zeigt die Reaktion von 2,4,6-Trichlorphenol zum Dansylderivat in Aceton/ Na_2CO_3 , daß ein hinreichend aktiviertes Heteroatom mit DNSC zum gewünschten Produkt umgesetzt werden kann. Trotzdem bewirkte weder die Durchführung der Reaktion in Triethylamin oder Pyridin als Lösemittel noch der Einsatz der starken Katalysatorbase 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) eine Dansylierung von Prochloraz-Harnstoff.

4.1.4 Dünnschichtchromatographische Bestimmung von ^{14}C -markiertem Prochloraz und Metaboliten

Bei der dünnschichtchromatographischen Trennung von Prochloraz und seinen Metaboliten auf Kieselgel wurden zwei Laufmittelsysteme eingesetzt, um die Ergebnisse insbesondere für die gefundenen Metabolite sowohl qualitativ als auch quantitativ abzusichern. Vor dem Einsatz wurden die verwendeten DC-Platten zwei Stunden bei 105 °C konditioniert, um anhaftende Feuchtigkeit von der Trennschicht zu entfernen. In Tabelle 4.4 sind die R_f -Werte der Substanzen zusammengestellt, die in den Extrakten aus Abbauversuchen mit ^{14}C -markiertem Prochloraz gefunden wurden. Neben dem direkten Vergleich der R_f -Werte mit solchen von Standardsubstanzen ermöglichte die Anwesenheit von Prochloraz in allen untersuchten Extrakten zusätzlich eine Peakzuordnung auf der Basis relativer R_f -Werte und qualitativer Peakmustererkennung. Bei der in den Standardlösungen enthaltenen radiochemischen Verunreinigung („unbk2“) handelte es sich wahrscheinlich um 2,4,6-Trichlorphenol. Dafür sprechen sowohl der Vergleich der R_f -Werte mit denjenigen eines unmarkierten Vergleichsstandards als auch die Tatsache, daß diese Substanz ein Ausgangsmaterial für die Synthese von Prochloraz darstellt. Da sich bei den Laborabbauexperimenten keinerlei Trends oder Abhängigkeiten von Versuchsparametern in den Anteilen

dieser Substanz zeigten, wurde sie in die weiteren Betrachtungen nicht mehr einbezogen.

Tabelle 4.4

R_f-Werte von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH), Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H), eines unbekannten polaren Metaboliten (unbk1) sowie einer in den Standardlösungen enthaltenen Verunreinigung (unbk2) bei der Trennung auf Kieselgel mit unterschiedlichen Laufmittelsystemen

	A - Toluol/Ethanol 15:1 (v/v)		B - Ethylacetat/Hexan 3:1 (v/v)	
	Bereich	Mittelwert	Bereich	Mittelwert
PCZ	0,17...0,23	0,20	0,22...0,35	0,28
PCZ-FH	0,24...0,34	0,28	0,52...0,68	0,61
PCZ-H	0,10...0,14	0,12	0,10...0,20	0,14
unbk1	0,04...0,10	0,06	0,00...0,06	0,03
unbk2	0,49...0,61	0,54	0,61...0,78	0,68

Mit einer dem Laufmittel A annähernd identischen Mischung von Benzol und Ethanol im Verhältnis 15:1 (v/v) wurde von der Herstellerfirma die radiochemische Reinheit des ¹⁴C-markierten Prochloraz auf einem nicht näher spezifizierten Kieselgel bestimmt (Campro Scientific, 1996). Der R_f-Wert von Prochloraz betrug hier 0,32. BOCK *et al.* (1996) setzten eine dem Laufmittel B ähnliche Ethylacetat/Hexan-Mischung im Verhältnis 3:2 (v/v) ein und konnten so auf Kieselgel Prochloraz-Formylharnstoff neben Prochloraz nachweisen. DISTLER (1991) verwendete Ethylacetat und Triethylamin im Verhältnis 50:1 (v/v). Die R_f-Werte von Prochloraz, Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff auf Kieselgel betrugen dabei 0,28, 0,58 und 0,16. In der Metabolismus-Studie von LAIGNELET *et al.* (1992) wurden acht verschiedene Abbauprodukte von Prochloraz in Ratten mit dem Laufmittelsystem Chloroform/Methanol/Eisessig (10:2:0,1 Volumenanteile) auf Kieselgel getrennt, jedoch nicht Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff. NEEDHAM und CHALLIS (1991) verwendeten Sequenzen mit bis zu vier Laufmittelsystemen, um Prochloraz und Metaboliten in den Extrakten aus Metabolismus-Experimenten mit Ratten aufzutrennen. Bei der vorliegenden Arbeit wurde auf eine derartig aufwendige Trennung verzichtet. Die Untersuchung der anfallenden Extrakte mit jeweils zwei Laufmittelsystemen erlaubte trotzdem in allen Fällen eine eindeutige Unterscheidung von Prochloraz und den hier relevanten Metaboliten Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff.

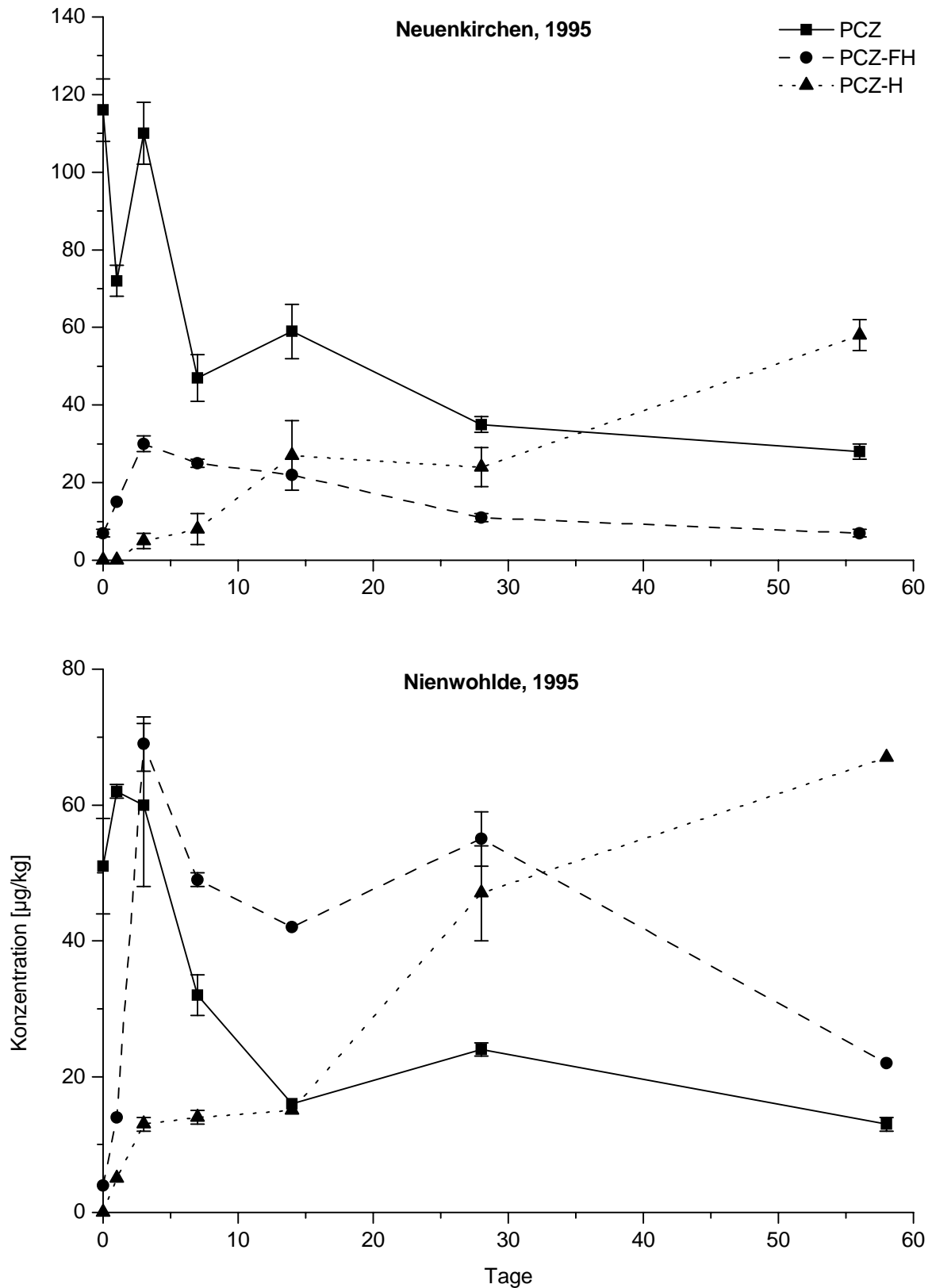
Der in Tabelle 4.4 als „unbk1“ bezeichnete polare Metabolit wurde in einigen Extrakten aus Abbauversuchen in hohen Konzentrationen nachgewiesen (Kapitel 4.3.3 und 4.3.4). In zusätzlichen DC-Experimenten wurde versucht, diese Substanz zwecks Identifizierung zu isolieren. Um sie besser von der Bodenmatrix sowie dem Wirkstoff und anderen Metaboliten abtrennen zu können, wurden dabei zum einen polarere Laufmittelgemische, zum anderen die Reversed Phase-DC eingesetzt. Die beste Trennung lieferte das Laufmittel Toluol/Ethanol im Verhältnis 5:1 (v/v) mit einem R_F -Wert von 0,29 für die zu isolierende Substanz. Bei einem niedrigeren Toluol-Gehalt sowie bei der Trennung mit Acetonitril/Wasser-Gemischen auf einem RP18-Material wurde der unbekannte polare Metabolit nicht ausreichend von den übrigen enthaltenen Substanzen abgetrennt. Nach einer entsprechenden semipräparativen Trennung mit dem erstgenannten Laufmittel wurde das Kieselgel im R_F -Bereich um 0,29 von der Platte gekratzt und mit Methanol extrahiert. Das Eluat wurde mittels HPLC/DAD und GC/MS untersucht, wobei jedoch kein Hinweis auf die Identität des unbekannten polaren Metaboliten erhalten werden konnte.

4.2 Feldversuche zur Rückstandsdynamik von Prochloraz

4.2.1 Abbau nach Applikation in den Bestand (1995)

Ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Arbeit bestand darin, die Rückstandsdynamik von Prochloraz vergleichend sowohl unter Labor- als auch unter Feldbedingungen zu untersuchen. Dazu wurde das Fungizid bei den 1995 durchgeführten Feldversuchen praxisüblich in den Bestand appliziert. Um den Einfluß von Standortfaktoren festzustellen, wurde jeweils ein Versuch in Neuenkirchen und in Nienwohlde durchgeführt.

Trotz Applikation in den Bestand gelangte ein relevanter Anteil des Wirkstoffes direkt auf den Boden. Die verwendete Analysenmethode erwies sich als ausreichend empfindlich, um die Konzentrationsverläufe von Prochloraz, Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff in beiden Böden zu verfolgen. Die entsprechenden Kurven für den tonigen Schluff (NK284) und den schluffigen Sand (NW212T3) sind in Abbildung 4.5 dargestellt. Zur Ermittlung der Konzentrationen wurden jeweils zwei behandelte Bodenproben sowie eine am gleichen Tag aus der Kontrollparzelle entnommene unbehandelte Probe parallel aufgearbeitet. Letztere wurde für die Blindwertkorrektur bei beiden behandelten Proben verwendet.

**Abbildung 4.5**

Konzentrationsverläufe von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH) und Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H) in den 1995 durchgeführten Feldversuchen mit Applikation in den Bestand

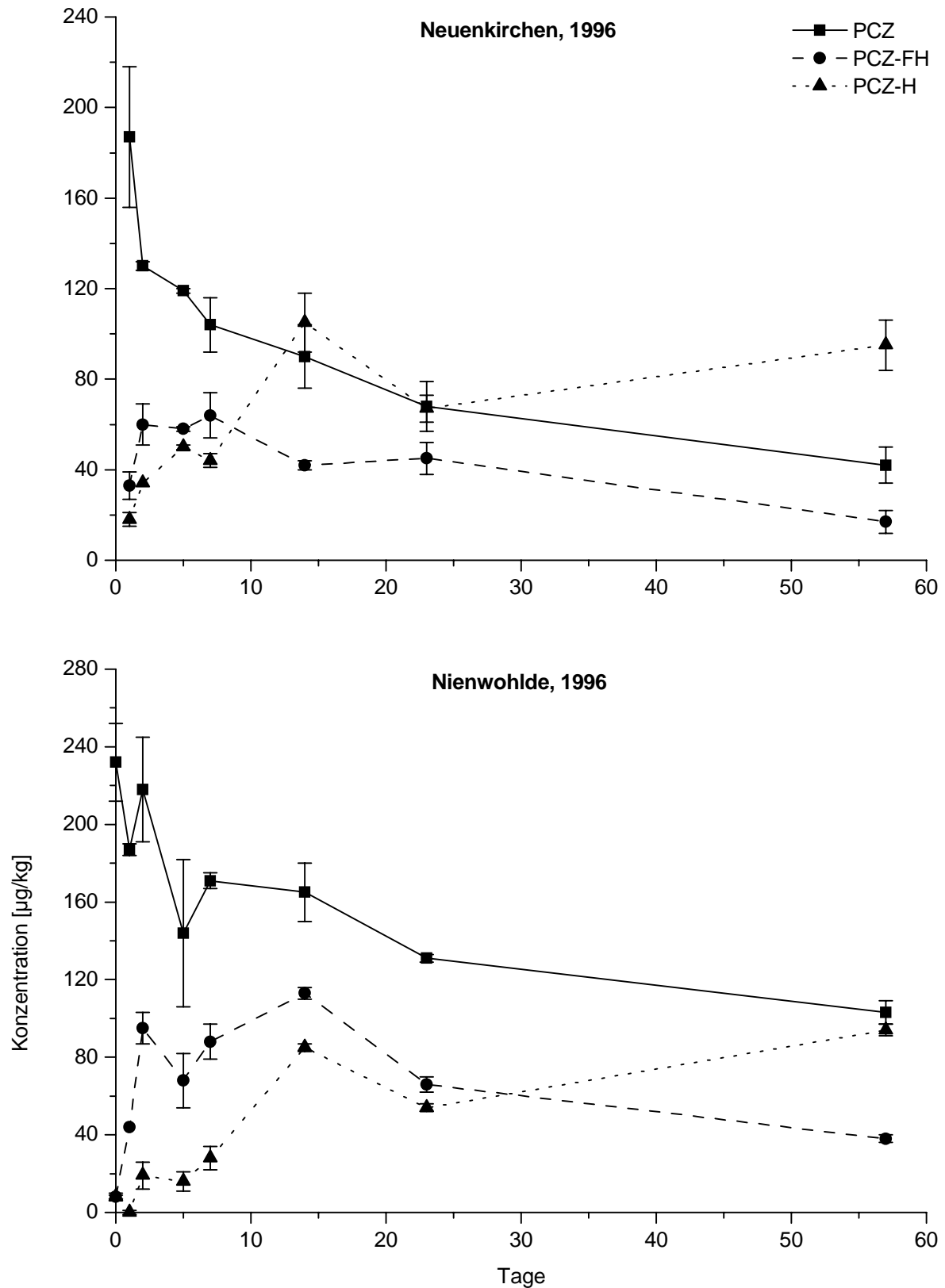
Bei der qualitativen Betrachtung der entsprechenden Verlaufskurven zeigen sich weitgehende Übereinstimmungen zwischen dem tonigen Schluff NK284 und dem schluffigen Sand NW212T3. In beiden Versuchen konnten alle drei untersuchten Substanzen nachgewiesen werden. Einer abnehmenden Konzentration von Prochloraz über die Versuchsdauer stand jeweils eine gleichmäßige Zunahme der Konzentration von Prochloraz-Harnstoff gegenüber. Die Konzentrationen von Prochloraz-Formylharnstoff stiegen sofort nach der Prochloraz-Applikation schnell an und durchliefen nach kurzer Zeit ein Maximum, um danach im weiteren Versuchsverlauf wieder abzunehmen.

Unmittelbar nach der Applikation wurde im Boden NK284 eine Prochloraz-Konzentration von $116 \mu\text{g kg}^{-1}$ bestimmt. Im Versuchszeitraum von 56 Tagen nahm sie bis auf einen Wert von $27 \mu\text{g kg}^{-1}$ ab. Mit der nach TIMME *et al.* (1986) angepaßten Abnahmefunktion wurde ein DT_{50} -Wert von 13 Tagen berechnet. Die Konzentration von Prochloraz-Formylharnstoff erreichte ihr Maximum von $30 \mu\text{g kg}^{-1}$ am dritten Tag nach der Applikation, und die Konzentration von Prochloraz-Harnstoff stieg bis zum 56. Tag auf einen Wert von $58 \mu\text{g kg}^{-1}$ an.

Die Prochloraz-Konzentration im Boden NW212T3 war direkt nach der Applikation mit $51 \mu\text{g kg}^{-1}$ niedriger als in Neuenkirchen, obwohl das Fungizid in einer höheren Aufwandmenge ausgebracht worden war. Dies ist wahrscheinlich auf eine verstärkte Interzeption durch einen dichteren Bestand auf dem Nienwohlder Standort zurückzuführen. Nach der Versuchsdauer von 58 Tagen waren noch $12 \mu\text{g kg}^{-1}$ Prochloraz im Boden nachzuweisen, der berechnete DT_{50} -Wert betrug 11 Tage. Das Konzentrationsmaximum von Prochloraz-Formylharnstoff wurde wie im Boden NK284 nach 3 Tagen erreicht, lag jedoch mit $69 \mu\text{g kg}^{-1}$ in NW212T3 deutlich höher. Bei Prochloraz-Harnstoff betrug die Konzentration nach 58 Tagen $67 \mu\text{g kg}^{-1}$.

4.2.2 Abbau nach direkter Bodenapplikation (1996)

Im Gegensatz zu 1995 wurde bei den Feldversuchen 1996 vor der Applikation auf den zu beprobenden Parzellen der Bestand mit einer Rasenschere entfernt, um eine direkte Bodenapplikation zu gewährleisten. Folgerichtig wurden an beiden Standorten deutlich höhere Prochloraz-Gehalte im Boden unmittelbar nach der Applikation gefunden. In Abbildung 4.6 sind die Konzentrationsverläufe für die Böden NK284 und NW212T3 dargestellt.

**Abbildung 4.6**

Konzentrationsverläufe von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH) und Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H) in den 1996 durchgeführten Feldversuchen mit direkter Bodenapplikation

Durch die 1996 aufgenommenen Verlaufskurven konnten die Ergebnisse von 1995 bestätigt werden. Die Konzentration von Prochloraz im Boden NK284 sank über 57 Tage von $188 \mu\text{g kg}^{-1}$ auf $42 \mu\text{g kg}^{-1}$. Die Berechnung des DT_{50} -Werts aus der angepaßten Abnahmefunktion lieferte mit 13 Tagen den gleichen Wert wie im entsprechenden Versuch aus dem Vorjahr. Das Konzentrationsmaximum für Prochloraz-Formylharnstoff wurde nach 7 Tagen mit $64 \mu\text{g kg}^{-1}$ erreicht, und die Konzentration von Prochloraz-Harnstoff stieg im Versuchsverlauf kontinuierlich auf $95 \mu\text{g kg}^{-1}$ nach 57 Tagen an.

Bei weitgehender qualitativer Übereinstimmung war im Boden NW212T3 in 1996 eine langsamere Abnahme der Prochloraz-Konzentration zu verzeichnen als in 1995. Ausgehend von einem Wert von $232 \mu\text{g kg}^{-1}$ sank sie mit einer berechneten DT_{50} von 43 Tagen auf $104 \mu\text{g kg}^{-1}$ nach 57 Tagen. Das Maximum der Konzentration von Prochloraz-Formylharnstoff war hier nochmals zeitlich nach hinten verschoben und lag bei $114 \mu\text{g kg}^{-1}$ nach 14 Tagen. Für Prochloraz-Harnstoff wurde ein stetiger Anstieg der Konzentration auf $94 \mu\text{g kg}^{-1}$ nach 57 Tagen festgestellt.

4.2.3 Bewertung der Rückstandsdynamik von Prochloraz unter Feldbedingungen

Die Aufwandmengen von Prochloraz variierten bei den Feldversuchen von 210 g ha^{-1} (NK284, 1995) über 300 g ha^{-1} (NW212T3, 1995 und NK284, 1996) bis hin zu 450 g ha^{-1} (NW212T3, 1996). Nach einer Überschlagsrechnung, die in den BBA-Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln angegeben wird (SCHINKEL *et al.*, 1986), entspräche dies bei direkter Bodenapplikation Konzentrationen im Boden von 210 bis $450 \mu\text{g kg}^{-1}$. Bei den Versuchen mit Applikation in den Bestand wurden demnach 55 % (NK284) bzw. 17 % (NW212T3) der theoretisch möglichen Konzentration im Boden gefunden. Dies zeigt, daß abhängig von der Dichte des Bestandes ein erheblicher Teil des praxisüblich applizierten Wirkstoffs den Boden erreichen kann. In den Versuchen mit direkter Bodenapplikation lagen die gefundenen Konzentrationen bei 62 % (NK284) bzw. 52 % (NW212T3) des theoretischen Werts.

Der Verlauf der Konzentrationen von Prochloraz, Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff läßt darauf schließen, daß der Abbau von Prochloraz im Boden analog zu dem in Metabolismusstudien mit Ratten (NEEDHAM und CHALLIS, 1991; LAIGNELET *et al.*, 1992) ermittelten Mechanismus erfolgte. Der primäre Metabolit ist dabei Prochloraz-Formylharnstoff, der vergleichsweise wenig beständig ist und zu Prochloraz-Harnstoff hydrolysiert wird. Hohe

Konzentrationen der Metabolite in allen vier Feldversuchen deuteten darauf hin, daß hier der Metabolisierung ein wesentlicher Anteil an der Abnahme der Prochloraz-Konzentration im Boden zukam. Dabei zeigte sich ein wesentlicher Unterschied zu den Morpholinfungiziden Fenpropimorph und Aldimorph, deren Rückstandsdynamik ebenfalls im Rahmen des SFB 179 an den gleichen Standorten untersucht worden war. Die Konzentrationen der primären Metabolite Fenpropimorphsäure und Aldimorph-C12-Alkohol lagen in den entsprechenden Feldversuchen jeweils deutlich unterhalb der Konzentration der Ausgangssubstanzen, so daß deren Verschwinden nur zu einem kleinen Teil mit der Bildung dieser Metabolite erklärt werden konnte (STOCKMAIER *et al.*, 1996; STOCKMAIER *et al.*, 1997).

In mehreren publizierten Studien zum Abbau von Pflanzenschutzmitteln unter Feldbedingungen konnten wie im Falle von Prochloraz die jeweiligen Abbaupfade anhand der Konzentrationsverläufe für Ausgangssubstanzen und Metabolite gut nachvollzogen werden (ROUCHAUD *et al.*, 1994; SORENSON *et al.*, 1994; STREK, 1998b; TRUBEY *et al.*, 1998). Ein direkter Vergleich mit Laborabbaupfaden wurde von diesen Autoren allerdings nicht vorgenommen. JAMES *et al.* (1995) ermittelten für Primisulfuron-methyl und Metsulfuron-methyl im Labor eine höhere Persistenz als unter Feldbedingungen und führten dies auf nicht näher bezeichnete Einflüsse zurück, die in den Laborversuchen nicht berücksichtigt worden waren. ROUCHAUD *et al.* (1997a) konstatierten für Rimsulfuron unterschiedliche Metabolitenverteilungen zwischen Labor- und Feldexperimenten, verzichteten jedoch auf Deutungsversuche. Derartige Diskrepanzen waren auch für Prochloraz zu beobachten (Kapitel 4.3). Die möglichen Ursachen dafür werden in den folgenden Abschnitten eingehender diskutiert.

Die über Anpassung von Abnahmefunktionen nach TIMME *et al.* (1986) errechneten DT_{50} -Werte für Prochloraz waren für drei der vier Versuche mit 11-13 Tagen annähernd identisch. Lediglich der Wert im Boden NW212T3 in 1996 wich davon mit 43 Tagen nach oben ab. In der Literatur werden für Prochloraz Halbwertszeiten unter Feldbedingungen von 6-28 (PERKOW, 1994; ARS/USDA, 1998) bzw. 5-37 Tagen (TOMLIN, 1994) angegeben. Die in dieser Arbeit ermittelten Werte stimmen damit gut überein. Nach den Zulassungsrichtlinien der BBA werden Wirkstoffe mit einem DT_{50} -Wert im Labor unter 30 Tagen und/oder einem DT_{90} -Wert unter 100 Tagen aufgrund geringer Beständigkeit als unbedenklich für den Naturhaushalt angesehen. HERZEL (1987) klassifizierte Substanzen mit einem DT_{50} -Wert unter 20 Tagen als „unbeständig“ und solche mit einem DT_{50} -Wert zwischen 20 und 50 Tagen als „mäßig beständig“. Für das

Verlagerungsrisiko in Richtung Grundwasser setzten COHEN *et al.* (1984) den Schwellenwert für die Persistenz einer Substanz bei einer Halbwertszeit oberhalb von 14-21 Tagen an. Bezogen auf drei der vier Feldversuchsergebnisse kann Prochloraz somit nach allen diesen Kriterien als wenig beständig und dementsprechend als nicht bedenklich eingestuft werden.

4.3 Laborversuche zur Rückstandsdynamik von Prochloraz unter Lichtausschluß

4.3.1 Abbau von nicht markiertem Prochloraz im Boden NK284

Parallel zu den ersten beiden Feldversuchen wurde ein Laborabbauversuch mit nicht markiertem Prochloraz durchgeführt, der hinsichtlich der Versuchsbedingungen an die BBA-Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln (SCHINKEL *et al.*, 1986) angelehnt war. Die dabei erhaltenen Ergebnisse unterschieden sich deutlich von denjenigen der Feldversuche. Trotz Dotierung mit der etwa neunfachen praxisüblichen Aufwandmenge wurde in den Ansätzen keine Bildung des Metaboliten Prochloraz-Formylharnstoff beobachtet. Die Konzentrationsbestimmung für Prochloraz-Harnstoff wurde durch einen Blindwert beeinträchtigt, der möglicherweise darauf zurückzuführen war, daß der beprobte Schlag in Neuenkirchen im Vorjahr schon einmal mit Prochloraz behandelt worden war. Dennoch ließ sich im Versuchsverlauf eine leichte Zunahme der Konzentration von Prochloraz-Harnstoff feststellen. Diese hatte zu Beginn des Versuches $60 \mu\text{g kg}^{-1}$ betragen und stieg danach innerhalb von 56 Tagen auf $106 \mu\text{g kg}^{-1}$ an. Für den Wirkstoff Prochloraz wurde eine langsame Abnahme der Konzentration beobachtet. Die Werte sanken von anfänglich $3040 \mu\text{g kg}^{-1}$ auf $2012 \mu\text{g kg}^{-1}$ nach 56 Tagen. Aus der Abnahmekurve wurde ein DT_{50} -Wert von 103 Tagen berechnet. Eine vergleichbare Halbwertszeit im Boden von 130 Tagen wird auch in einer Datenbank genannt (ARS/USDA, 1998), allerdings ohne dabei die zugrundeliegenden Bedingungen zu spezifizieren.

Eine Beeinträchtigung des Prochloraz-Abbaus infolge mangelnder mikrobieller Aktivität des Bodens konnte anhand von Kontrollversuchen zur Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität ausgeschlossen werden. Bei undotiertem Boden gleichermaßen wie bei Dotierung mit Methanol oder mit Prochloraz in der Konzentration des Abbauxperiments war über den Zeitraum von 56 Tagen nur ein geringes Absinken der Dehydrogenaseaktivitäten zu beobachten.

(Abbildung 4.7). Sowohl die Startwerte von 145-149 μg TPF (bezogen auf 1 g trockenen Boden und 24 h Inkubationsdauer) als auch die zum Versuchsende bestimmten Werte von 104-119 μg TPF lagen in einem für Ackerböden typischen Bereich (MALKOMES und HEITKÄMPER, 1995).

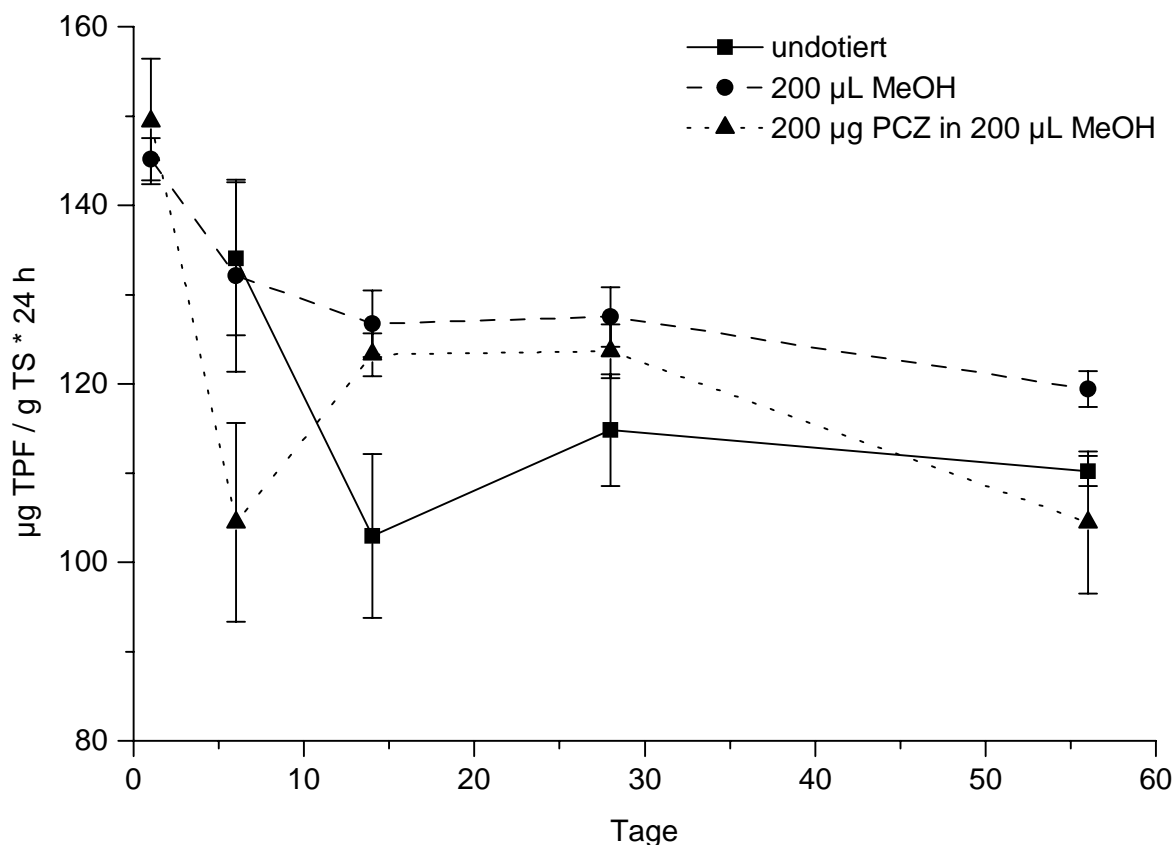


Abbildung 4.7

Dehydrogenaseaktivitäten unterschiedlich dotierter Referenzproben im Verlauf des Abbaubversuchs mit dem Boden NK284 bei 20 °C

4.3.2 Abbau von ^{14}C -markiertem Prochloraz im Boden NK284

Der erste Laborabbaubversuch mit ^{14}C -markiertem Prochloraz wurde unter weitgehend analogen Bedingungen durchgeführt wie der Laborabbaubversuch mit nicht markiertem Prochloraz, um eine Vergleichbarkeit der Resultate mit letzterem sowie mit den Feldversuchen zu gewährleisten. Dabei zeigte sich eine gute Übereinstimmung in den Ergebnissen beider Laborversuche. Die Prochloraz-Konzentration nahm auch beim Abbaubexperiment mit ^{14}C -Prochloraz nur langsam ab. Nach 56 Tagen lagen 64,4 % der Radioaktivität als unveränderte Aktivsubstanz vor, nach 300 Tagen noch 37,6 % (Abbildung 4.8). Hieraus

errechnete sich ein DT_{50} -Wert von 256 Tagen. Bis zum 56. Tag war insgesamt ein geringer Anstieg des Anteils von Prochloraz-Harnstoff auf 3,7 % der gesamten applizierten Radioaktivität zu verzeichnen. Im weiteren Versuchsverlauf setzte sich dies jedoch nicht fort. Stattdessen blieb der Wert nach 112 und 300 Tagen konstant bei etwa 3 % der Ausgangsaktivität. In den DC-Chromatogrammen der Bodenextrakte traten neben den bekannten Verunreinigungen der Ausgangssubstanz zudem ein Peak eines unbekannten polaren Metaboliten und teilweise ein Peak, der im R_F -Wert Prochloraz-Formylharnstoff entsprach, auf. Stark schwankende Gehalte ließen allerdings eine Bildung dieses Metaboliten im Rahmen des bei der Diskussion der Feldversuche skizzierten Abbaupfades (Kapitel 4.2.3) als wenig wahrscheinlich erscheinen.

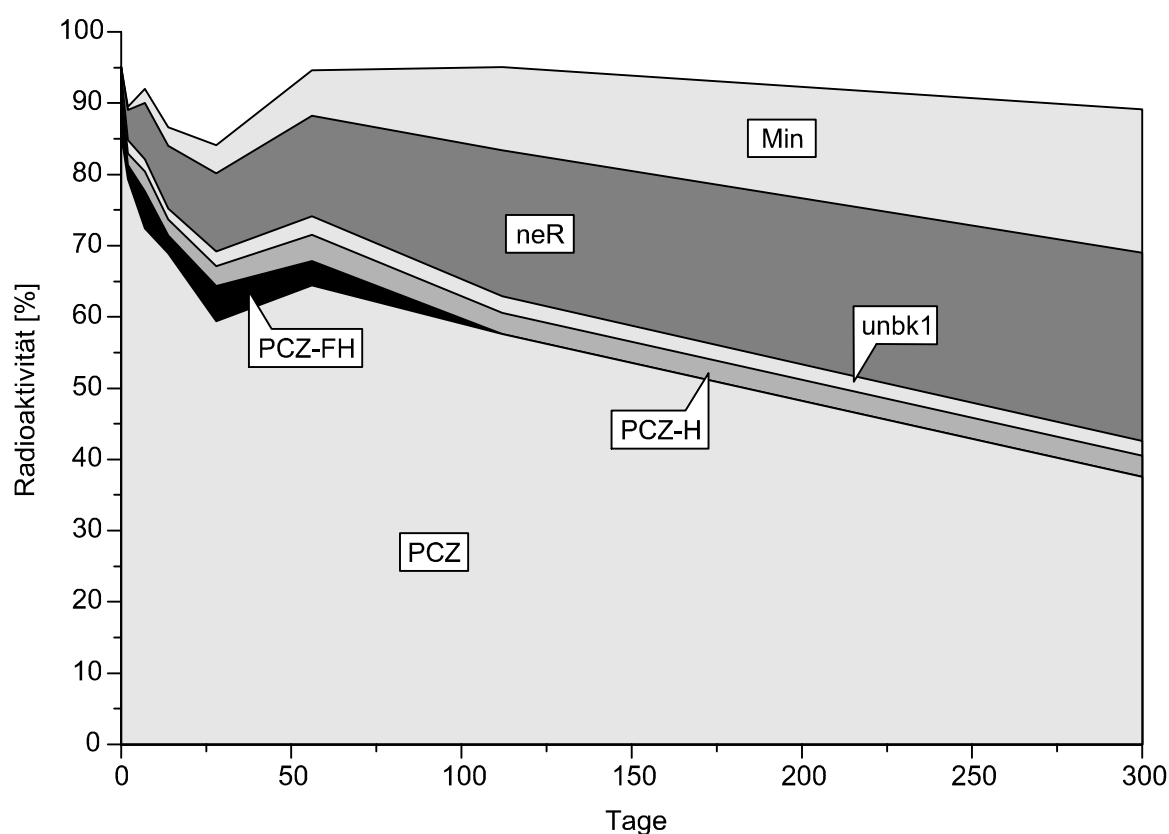


Abbildung 4.8

Bilanzierung des Abbaubversuchs mit ^{14}C -Prochloraz in NK284 bei 25 °C (PCZ - Prochloraz; PCZ-FH - Prochloraz-Formylharnstoff; PCZ-H - Prochloraz-Harnstoff; unbk1 - unbekannter Metabolit; neR - nichtextrahierbare Rückstände; Min - Mineralisation)

Neben der Bestimmung von Substanzen in Extrakten ermöglicht die Radiotracer-technik zusätzlich eine komplette Bilanzierung unter Einbeziehung der Mineralisation und der Bildung nichtextrahierbarer Rückstände. Beide Vorgänge

waren im Laborabbauversuch zu beobachten (Abbildung 4.8). Der Anteil der als $^{14}\text{CO}_2$ freigesetzten Radioaktivität war mit 6,4 % nach 56 Tagen und 20,1 % nach 300 Tagen verhältnismäßig klein. Auch die Festlegung in Form nichtextrahierbarer Rückstände blieb mit 14,1 % nach 56 Tagen und 26,4 % nach 300 Tagen gering. Am Ende des Versuchs lag demnach noch mehr als die Hälfte der ursprünglich applizierten Radioaktivität in Form des unveränderten Wirkstoffs oder extrahierbarer Abbauprodukte vor.

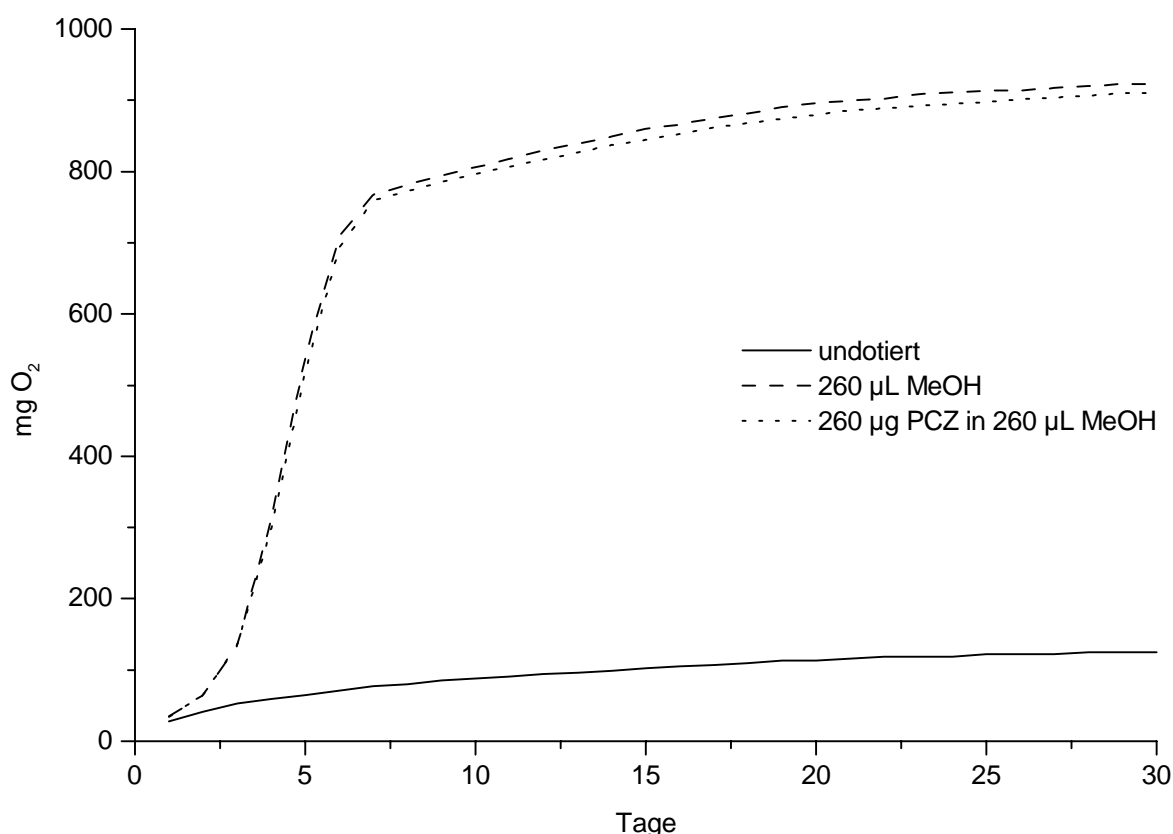


Abbildung 4.9

Mittels SaproMat bestimmte Bodenatmung unterschiedlich dotierter Referenzproben im Verlauf des Abbauersuchs mit dem Boden NK284 bei 25 °C

Wie beim Laborabbauversuch mit nicht markiertem Prochloraz konnte auch hier ausgeschlossen werden, daß die im Vergleich zu den Feldversuchen langsamere Abnahme des Wirkstoffs und die sehr viel niedrigeren Metabolit-Konzentrationen durch eine zu geringe mikrobielle Aktivität des Bodens bedingt waren. Bei einem undotierten Boden nahm die Dehydrogenaseaktivität im Zeitraum von 51 Tagen von 148 auf 118 µg TPF ab. Bei entsprechend dem Abbauersuch mit Methanol oder Prochloraz in methanolischer Lösung dotierten Bodenproben

lagen die nach 6 Tagen gemessenen Dehydrogenaseaktivitäten bei 215 bzw. 221 $\mu\text{g TPF}$ und betrugen nach 66 Tagen 139 bzw. 131 $\mu\text{g TPF}$. Die anfänglich höhere Aktivität dotierter Böden wurde auch bei der Messung der Bodenatmung in der Sapro-mat-Apparatur festgestellt (Abbildung 4.9). Während der Sauerstoffverbrauch des undotierten Bodens sich nach 30 Tagen auf 125 mg belief, zeigten die Atmungskurven beider dotierter Böden einen steilen Anstieg bis zum siebten Tag und verliefen danach parallel verschoben zur Atmungskurve des undotierten Bodens. Der Sauerstoffverbrauch nach 30 Tagen betrug bei Dotierung mit Methanol 923 mg und bei Dotierung mit Prochloraz in methanolischer Lösung 910 mg. Somit war die zu Versuchsbeginn erhöhte mikrobielle Aktivität der dotierten Böden wahrscheinlich die Folge einer Metabolisierung von Methanol, was durch die Anwesenheit von Prochloraz nicht beeinträchtigt wurde.

4.3.3 Abbau von Prochloraz in den Böden NK284 und NW212T3 bei 30 °C

Angesichts der langsamen Abnahme der Prochloraz-Gehalte in den bei 25 oder 20 °C inkubierten Böden der ersten beiden Laborabbauversuche wurde bei den weiteren Experimenten die Inkubationstemperatur auf 30 °C erhöht. Dies resultierte in einem schnelleren Verschwinden von Prochloraz sowohl im tonigen Schluff NK284 als auch im schluffigen Sand NW212T3 (Abbildung 4.10). Im Versuch mit dem Boden NK284 nahm der Prochloraz-Anteil nach 56 Tagen auf 38,3 % der gesamten applizierten Radioaktivität ab, beim Boden NW212T3 lagen zu diesem Zeitpunkt noch 47,7 % der Radioaktivität als Prochloraz vor. Die berechneten DT_{50} -Werte lagen bei 39 Tagen für NK284 und 76 Tagen für NW212T3. Trotz dieser deutlich erhöhten Abnahmeraten wurde Prochloraz-Formylharnstoff in in beiden Versuchen nicht und Prochloraz-Harnstoff nur in Mengen von 1,5 % bzw. 0,9 % der applizierten Radioaktivität nachgewiesen. Stattdessen trat in den DC-Chromatogrammen das Signal eines unbekannten polareren Metaboliten auf. Dessen Anteil an der applizierten Radioaktivität betrug nach 56 Tagen im Boden NK284 4,5 % und im Boden NW212T3 sogar 10,8 %.

Deutliche Unterschiede zwischen beiden für die Untersuchung verwendeten Böden zeigten sich bei der Betrachtung der Mineralisation. Im Fall des tonigen Schluffs aus Neuenkirchen betrug diese nach 56 Tagen 6,4 %. Im Unterschied dazu wurden im schluffigen Sand aus Nienwohlde über den gleichen Zeitraum lediglich 0,8 % der applizierten Aktivität als $^{14}\text{CO}_2$ freigesetzt. Bei der Bildung

nichtextrahierbarer Rückstände ergaben sich hingegen für beide Böden ähnliche Werte von 26,6 % für NK284 und 30,2 % für NW212T3.

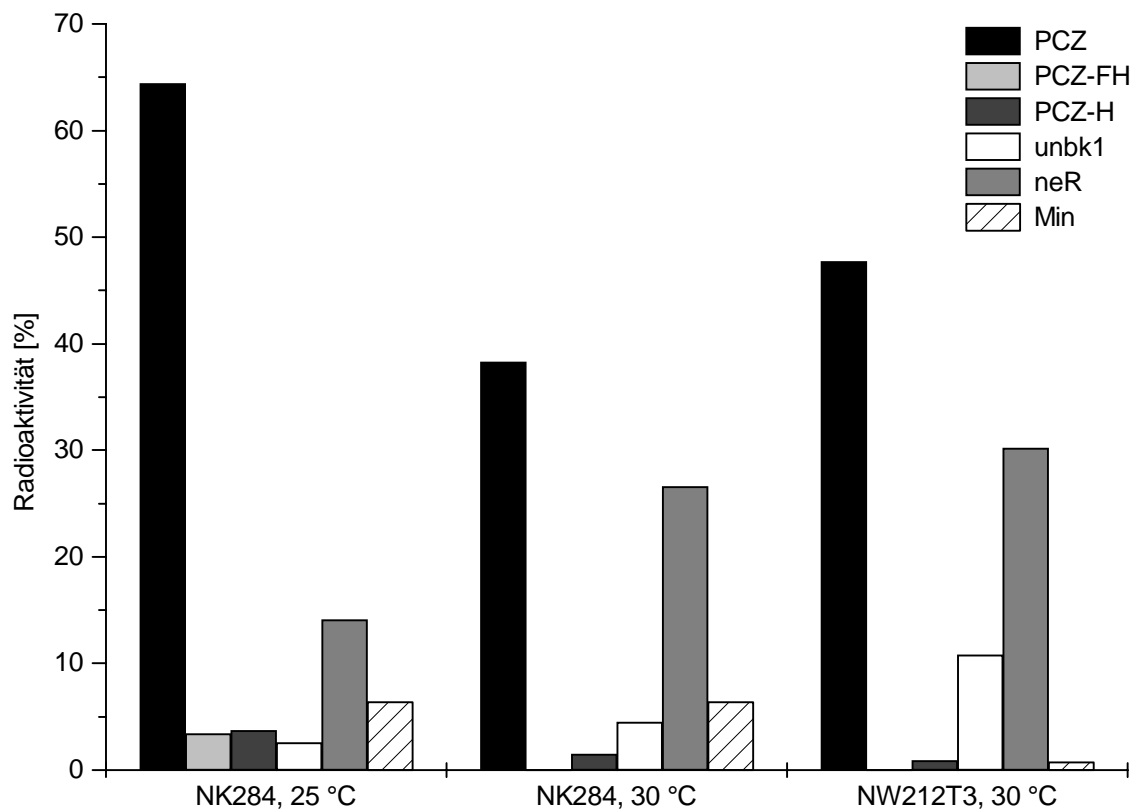


Abbildung 4.10

Verteilung der Radioaktivität nach 56 Tagen bei Abbauxperimenten mit ^{14}C -Prochloraz in unterschiedlichen Böden bei 25 und 30 °C (PCZ - Prochloraz; PCZ-FH - Prochloraz-Formylharnstoff; PCZ-H - Prochloraz-Harnstoff; unbk1 - unbekannter Metabolit; neR - nichtextrahierbare Rückstände; Min - Mineralisation)

4.3.4 Einfluß des organischen Kohlenstoffs auf den Abbau von Prochloraz

Eine Untersuchung des Einflusses organischer Bodenbestandteile auf Abbauvorgänge im Boden erfordert die Durchführung entsprechender Experimente mit Böden verschiedenen Kohlenstoffgehalts bei ansonsten möglichst identischen Eigenschaften. Eine auf den ersten Blick naheliegende Möglichkeit dafür ist die Dotierung eines C_{org} -armen Bodens mit künstlichen oder aus natürlichen Quellen isolierten Huminstoffen. Nachteil einer solchen Vorgehensweise ist jedoch, daß sich ein solcherart C_{org} -angereicherter Boden deutlich von einem natürlich

gewachsenen C_{org}-reichen Boden unterscheidet. Im Handel erhältliche künstliche Huminsäuren weichen in ihrem strukturellen Aufbau wesentlich von Huminstoffen natürlichen Ursprungs ab. MALCOLM und MACCARTHY (1986) stellten deutliche Unterschiede vor allem in den ¹³C-NMR-Spektren fest und klassifizierten die kommerziellen Huminsäuren als ungeeignetes Substitut für natürliche Huminstoffe in Wasser- und Bodenuntersuchungen. QUIANG *et al.* (1993) fanden Unterschiede sowohl in den ¹³C-NMR-Spektren als auch in anderen bodenchemisch bedeutsamen Kenngrößen. Demnach beinhalteten die kommerziellen Huminsäuren wesentlich mehr aliphatische und weniger aromatische Strukturen als solche natürlichen Ursprungs. Nach den Ergebnissen von PICCOLO (1997) sind solche Produkte im Unterschied zu den polydispersen natürlichen Huminstoffen hauptsächlich aus aliphatischen Monomeren ähnlichen Molekulargewichts zusammengesetzt. Da zudem im Normalfall keine Informationen zur Herkunft kommerzieller Huminsäuren vorliegen, wird allgemein davon abgeraten, diese Substanzen bei umweltchemischen Untersuchungen einzusetzen. Andererseits ist jedoch auch zu bedenken, daß z.B. aus Schwarzwässern isolierte natürliche Huminstoffe trotz besserer struktureller Übereinstimmung nicht notwendigerweise identisch mit dem in Ackerböden auftretenden Spektrum an Huminstoffen sind. Ein wesentlicher Aspekt ist z.B. das Fehlen der säure- und basenunlöslichen Humine. Zudem liegen die Huminstoffe in Böden nicht isoliert, sondern häufig als Ton-Humus-Komplexe vor, was bei einem frisch mit Huminsäuren dotierten Boden nicht der Fall ist (ZIECHMANN und MÜLLER-WEGENER, 1990).

Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Experimenten wurde daher ein anderer Ansatz gewählt. Es wurden drei Böden eines Schlages am Versuchstandort Nienwohlde ausgewählt, der aufgrund seiner Nutzungsvorgeschichte eine hohe räumliche Variabilität insbesondere bezüglich des C_{org}-Gehalts aufweist. Hingegen stimmten die verwendeten Böden in Textur und pH-Wert gut miteinander überein, so daß von einer Beeinflussung der Versuchsergebnisse durch diese Parameter nicht auszugehen war.

Ein Einfluß des organischen Kohlenstoffs im Boden auf die Rückstandsdynamik von Prochloraz ließ sich in den durchgeführten Abbauversuchen nicht erkennen (Abbildung 4.11). Zum Versuchsende nach 56 Tagen waren die Prochloraz-Konzentrationen in allen drei Böden mit 56,1 % (NW101/a), 60,1 % (NW101/b) und 58,4 % (NW101/c) fast gleich hoch. Prochloraz-Formylharnstoff trat in den Experimenten mit NW101/a und NW101/b in sehr geringen Konzentrationen auf, während es im Boden NW101/c mit dem höchsten C_{org}-Gehalt nicht nachgewiesen werden konnte. Bei Prochloraz-Harnstoff lag der für den C_{org}-

ärmsten Boden NW101/a bestimmte Anteil mit 1,8 % nur geringfügig über den in den anderen beiden Böden gefundenen 1,1-1,2 %. Lediglich der Anteil des bereits im vorhergehenden Experiment (Kapitel 4.3.3) insbesondere im Nienwohlder Boden nachgewiesenen unbekannten polaren Metaboliten fiel in NW101/a von 5,8 % nach 28 Tagen auf 2,4 % nach 56 Tagen. Hingegen war in NW101/b und NW101/c für diese Substanz eine kontinuierliche Zunahme bis auf 10,8 % nach 56 Tagen zu verzeichnen.

Wie zuvor im schluffigen Sand NW212T3 wurde auch bei den in diesem Versuch verwendeten Nienwohlder Böden eine sehr geringe $^{14}\text{CO}_2$ -Freisetzungsrate beobachtet. Die Mineralisation nach 56 Tagen betrug in NW101/a 3,2 %, in NW101/b 1,1 % und in NW101/c 1,4 %. Ein direkter Zusammenhang mit dem C_{org} -Gehalt ließ sich also nicht feststellen, was auch auf die Menge der gebildeten nichtextrahierbaren Rückstände zutraf. In der Reihenfolge zunehmenden C_{org} -

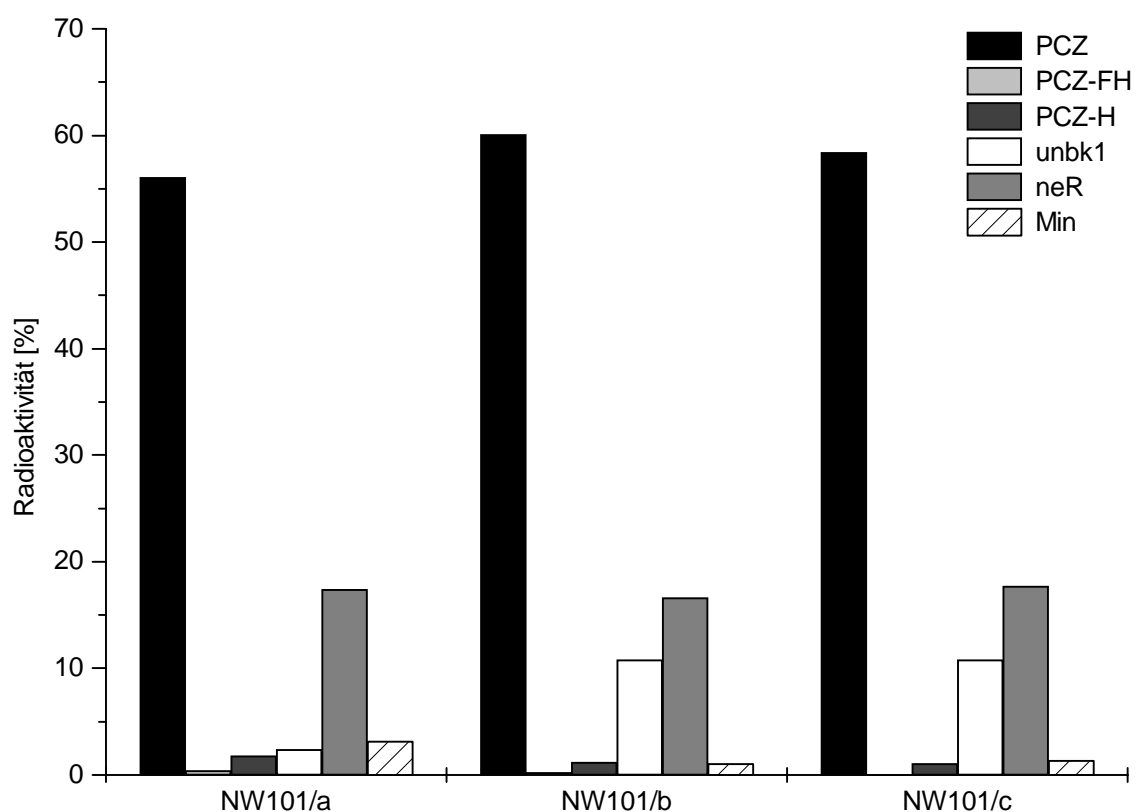


Abbildung 4.11

Verteilung der Radioaktivität nach 56 Tagen bei Abbauexperimenten mit ^{14}C -Prochloraz in Böden unterschiedlichen C_{org} -Gehalts (PCZ - Prochloraz; PCZ-FH - Prochloraz-Formylharnstoff; PCZ-H - Prochloraz-Harnstoff; unbk1 - unbekannter Metabolit; neR - nichtextrahierbare Rückstände; Min - Mineralisation)

Gehalts der Böden wurden davon in NW101/a 17,4 %, in NW101/b 16,6 % und in NW101/c 17,7 % nach 56 Tagen gefunden.

4.3.5 Einfluß der Bodentextur auf den Abbau von Prochloraz

Bei der Planung der Experimente zum Einfluß der Bodentextur auf die Rückstandsdynamik von Prochloraz waren hinsichtlich der Auswahl der Böden analoge Aspekte zu beachten wie bei den Versuchen zum Einfluß des C_{org} -Gehalts. Anstelle den Tongehalt eines Bodens durch Dotierung mit Tonmineralien zu vergrößern, wurden daher Abbauxperimente mit dem schluffigen Lehm NK273 durchgeführt und die Ergebnisse mit denen eines Kontroll-experiments mit dem tonigen Schluff NK284 verglichen.

Der höhere Ton- und geringere Schluffgehalt des Bodens hatte keine wesent-

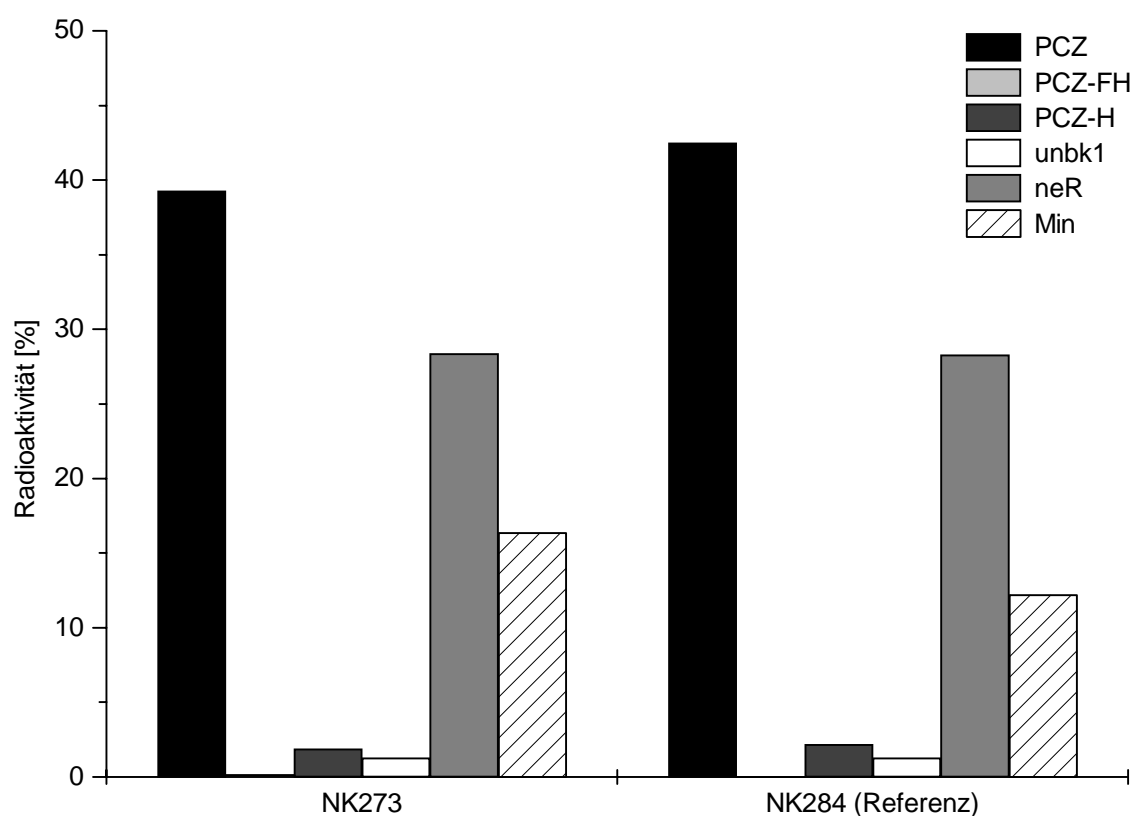


Abbildung 4.12

Verteilung der Radioaktivität nach 56 Tagen bei Abbauxperimenten mit ^{14}C -Prochloraz in Böden unterschiedlicher Textur (PCZ - Prochloraz; PCZ-FH - Prochloraz-Formylharnstoff; PCZ-H - Prochloraz-Harnstoff; unbk1 - unbekannter Metabolit; neR - nichtextrahierbare Rückstände; Min - Mineralisation)

lichen Auswirkungen auf den Abbau von Prochloraz (Abbildung 4.12). Während in NK273 nach 56 Tagen 42,5 % der applizierten Radioaktivität als Wirkstoff im Extrakt gefunden wurden, waren es im Kontrollexperiment 39,3 %. Von den Metaboliten konnte Prochloraz-Formylharnstoff nur mit einem Anteil von 0,2 %, Prochloraz-Harnstoff mit 1,9 % und der unbekannte polare Metabolit mit 1,3 % der Ausgangsaktivität nachgewiesen werden. Die entsprechenden Ergebnisse des Kontrollversuches stimmten mit diesen Werten gut überein.

Auch im Hinblick auf Mineralisation und nichtextrahierbare Rückstände lieferte das Abbauphperiment in NK273 gleiche Ergebnisse wie das Kontrollphperiment und der zuvor durchgeführten Abbauphversuch in NK284 (Kapitel 4.3.3). Nach 56 Tagen waren 16,4 % der applizierten Radioaktivität als $^{14}\text{CO}_2$ freigesetzt worden, und 28,4 % lagen als nichtextrahierbare Rückstände vor.

4.3.6 Einfluß der mikrobiellen Bodenaktivität auf den Abbau von Prochloraz

Mit der Modifikation der mikrobiellen Bodenaktivität wurden zwei Ziele verfolgt. Zum einen war zu klären, ob die in den Labor- und stärker noch in den Feldversuchen beobachteten Abbau- und Umwandlungsreaktionen biotischer oder abiotischer Natur waren. Zum anderen sollte festgestellt werden, ob und inwieweit die Diskrepanzen zwischen den Ergebnissen von Feld- und Laborversuchen mit dem Parameter der mikrobiellen Bodenaktivität in Zusammenhang gebracht werden konnten.

Zur Beantwortung der ersten Frage wurden Abbauphperimente mit sterilisierten Böden NK284 und NW212T3 durchgeführt. In beiden Fällen zeigte sich nach 56 Tagen eine Abnahme des Prochloraz-Anteils auf 57,2 % bzw. 52,1 % der Ausgangsaktivität. Prochloraz-Formylharnstoff wurde jeweils in Anteilen von 0,5 % bzw. 0,7 % nachgewiesen, ebenso wie Prochloraz-Harnstoff mit 0,8 % bzw. 1,3 %. Unterschiede zwischen den beiden Böden waren bei der Bildung des unbekannten polaren Metaboliten zu beobachten. Ähnlich wie bei den übrigen Laborabbauphversuchen war sein Anteil im Nienwohlder Boden NW212T3 mit 3,2 % deutlich größer als im Neuenkirchener Boden NK284 mit 1,4 %.

Während nichtextrahierbare Rückstände mit 21,5 % bzw. 25,5 % in NK284 und NW212T3 in der gleichen Größenordnung auftraten wie in den Laborversuchen mit nicht sterilisierten Böden, wurde in beiden Sterilansätzen so gut wie keine $^{14}\text{CO}_2$ -Freisetzung (jeweils 0,1 % nach 56 Tagen) beobachtet.

Im Gegenzug bewies der Abbaubersuch mit strohangereichertem Boden NK284, daß eine erhöhte mikrobielle Aktivität zu einem verstärkten Prochloraz-Abbau beiträgt. Die mikrobielle Aktivität dieses Bodens war nach sechswöchiger Vorabinkubation mit 379 µg TPF mehr als doppelt so hoch wie die einer Kontrollprobe mit 151 µg TPF. Neben der Strohzugabe war dies auch durch den höheren Wassergehalt von 60 % der WK_{max} bedingt. 56 Tage nach Versuchsbeginn wurden im strohangereicherten Boden nur noch 30,0 % der applizierten Radioaktivität als Prochloraz nachgewiesen. Dies schlug sich allerdings nicht in wesentlich höheren Metabolitgehalten nieder. Als Prochloraz-Formylharnstoff lagen lediglich 0,3 %, als Prochloraz-Harnstoff 3,2 % und als unbekannter polarer Metabolit 0,9 % der Ausgangsaktivität vor.

Für Mineralisation und nichtextrahierbare Rückstände wurden in diesem Experiment Anteile von 18,3 bzw. 30,8 % gefunden. Beide Werte waren jeweils geringfügig größer als bei anderen Abbaubersuchen mit dem Boden NK284.

4.3.7 Diskussion des Einflusses der variierten Bodenparameter auf die Rückstandsdynamik von Prochloraz

Beim Boden NK284 äußerte sich die Erhöhung der Inkubationstemperatur von 25 auf 30 °C in einer deutlichen Verringerung des DT_{50} -Werts von Prochloraz um den Faktor 6,5. Dies zeigt einen starken Einfluß der Temperatur auf die Abnahmerate. Für verschiedene andere Pflanzenschutzmittelwirkstoffe wurde abhängig vom jeweils untersuchten Temperaturintervall zwischen 7 und 20 °C eine Verringerung der DT_{50} -Werte um Faktoren zwischen 1,2 und 6,9 festgestellt (JAMES *et al.*, 1995; LECHÓN *et al.*, 1997; RAVELLI *et al.*, 1997). In ihrer Studie zum Abbau von Thifensulfuron-methyl differenzierten CAMBON *et al.* (1998) nach biotischen und abiotischen Abbaureaktionen. Das Temperaturoptimum der biotischen Prozesse lag bei etwa 40-45 °C. Erst oberhalb von 53 °C verlief der Abbau ausschließlich abiotisch mit einer dem Arrhenius-Gesetz folgenden linearen Beziehung zwischen dem Logarithmus der Abbaurrate und dem Kehrwert der Temperatur. Bezüglich des biotischen Abbaus von Diallat und Triallat zwischen 4 und 27 °C ermittelte ANDERSON (1994) eine Abnahme der mikrobiellen Biomasse mit der Temperatur. Diese wurde jedoch durch die Zunahme der Enzymaktivität deutlich überkompensiert, so daß insgesamt eine Beschleunigung des Abbaus mit der Temperatur resultierte. Offensichtlich ist also eine Erhöhung der Inkubationstemperatur von 20 oder 25 auf 30 °C geeignet, die Geschwindigkeit sowohl biotischer als auch abiotischer Abbau- und Umwandlungsreaktionen zu vergrößern, ohne daß dabei das Temperatur-

optimum mikrobieller Prozesse überschritten wird. Auf dieser Grundlage wurden die weiteren Experimente zum Einfluß verschiedener Umgebungsparameter auf die Rückstandsdynamik von Prochloraz durchgeführt.

Neben der höheren Abnahmerate von Prochloraz war bei der Steigerung der Temperatur von 25 auf 30 °C als offensichtliche Folge der beschleunigten Umwandlungsprozesse in etwa eine Verdopplung des Anteils der nichtextrahierbaren Rückstände zu beobachten. Ähnliche Tendenzen wurden auch für Isoproturon im Bereich zwischen 11 und 18 °C oder für Diallat bei Temperaturen bis 30 °C festgestellt (GAILLARDON und SABAR, 1993; ANDERSON, 1994). Auch wenn ein Vergleich derartiger Angaben aufgrund der in den Studien eingesetzten unterschiedlichen Extraktionsverfahren lediglich eingeschränkte Aussagekraft besitzt, bestätigt er zumindest qualitativ den Zusammenhang zwischen Temperatur und Substanzfestlegung.

Hinsichtlich der Mineralisation können die durchgeführten Abbauxperimente in drei Gruppen eingeteilt werden. In sterilisierten Böden wurde praktisch kein $^{14}\text{CO}_2$ freigesetzt. In den sauren Nienwohlder Böden war die Mineralisation mit 0,8-3,2 % in 56 Tagen sehr gering, während sie in den neutralen bis schwach basischen Neuenkirchener Böden 6,4-18,3 % betrug. Eine mögliche Erklärung dafür ist die stärkere Sorption von Prochloraz bei niedrigeren pH-Werten mit der daraus folgenden geringeren Verfügbarkeit der Substanz für Abbaureaktionen in der Bodenlösung (RÜTTERS *et al.*, 1998). In der Tat lagen die Prochloraz-Gehalte nach 56 Tagen mit 47,7-60,1 % in den Nienwohlder Böden über den entsprechenden Gehalten von 30,0-42,5 % in den Neuenkirchener Böden (bezogen nur auf die bei 30 °C inkubierten Abbauxperimente). Wesentlich für die geringere Mineralisation in den Nienwohlder Böden dürfte jedoch die direkte oder indirekte Behinderung späterer Abbauschritte durch den niedrigen pH-Wert sein. BLUMHORST und WEBER (1994) führten den Einfluß des pH-Werts in ihrer Studie zum Abbau der Triazinherbizide Atrazin und Cyanazin ebenfalls auf derartige Effekte zurück. Die mikrobielle Umsetzung der Substanzen wurde durch höhere pH-Werte begünstigt, einerseits aufgrund der dann geringeren Sorption, andererseits durch die günstigeren Bedingungen für die dafür verantwortlichen Mikroorganismen. PUSSEMIER *et al.* (1997) ermittelten bei Abbauxperimenten mit Atrazin in 36 Böden eine positive Korrelation von pH-Wert und Abbaurate und deuteten dies mit einer durch höhere pH-Werte begünstigten Adaptation von Mikroorganismen für den Abbau.

Qualitativ äußerte sich der Einfluß des pH-Werts in der vorliegenden Arbeit zudem im Spektrum der auftretenden Abbauprodukte. Der in den Nienwohlder

Böden in großen Anteilen gefundene unbekannte polare Metabolit wurde in den Experimenten mit Neuenkirchener Böden nur in wesentlich kleineren Mengen gebildet. Vergleichbar dazu erhielten PIEUCHOT *et al.* (1996) für Isoproturon bei Abbauversuchen in sauren, neutralen und basischen Böden unterschiedliche Substanzmuster, die sie mit dem Einfluß des pH-Werts auf Zusammensetzung und Aktivität der mikrobiellen Biomasse erklärten. Andererseits kann auch die pH-Abhängigkeit chemischer Prozesse bedeutsam sein, wie beispielsweise im Fall der chemischen Hydrolyse des Sulfonylharnstoff-Herbizids Amidosulfuron (SAGAN *et al.*, 1998). Da allerdings für den unbekannten polaren Prochloraz-Metaboliten keine Strukturinformationen vorliegen, können zu den für seine Bildung verantwortlichen Prozesse in diesem Zusammenhang keine Aussagen getroffen werden.

Prinzipiell existieren verschiedene Wege, auf denen der Abbau eines Pflanzenschutzmittelwirkstoffs durch den organischen Kohlenstoff im Boden beeinflusst werden kann. In Modellstudien wurden bei unterschiedlichen Umweltchemikalien in Gegenwart verschiedener organischer Matrices niedrigere Abbauraten infolge verringerter Bioverfügbarkeit beobachtet (KNAEBEL *et al.*, 1996; HATZINGER und ALEXANDER, 1997). Obwohl der C_{org} -Gehalt ein bestimmender Parameter für die Sorption von Prochloraz ist (RÜTTERS *et al.*, 1998), konnte jedoch kein entsprechender Einfluß auf dessen Abbau festgestellt werden. Ähnlich zeigten die Untersuchungen von DIAZ DIAZ *et al.* (1995) für 8 von 14 untersuchten Wirkstoffe keine Auswirkungen des C_{org} -Gehalts auf die DT_{50} -Werte. Hinsichtlich der übrigen Substanzen wurden sowohl Verlangsamung als auch Beschleunigung des Abbaus beobachtet, ohne näher auf mögliche Ursachen dafür einzugehen. Bei weiteren Studien, in denen Pflanzenschutzmittel-Abbauversuche mit Böden unterschiedlichen C_{org} -Gehalts durchgeführt wurden (PIEUCHOT *et al.*, 1996, SAGAN *et al.*, 1998), wurde dessen eventueller Einfluß durch den des pH-Wertes völlig überdeckt.

Die Huminstoffe und weiteren Substanzen, die den bodenbürtigen C_{org} -Gehalt von Böden konstituieren, stellen keine für Mikroorganismen verfügbaren Nährsubstrate dar. Ein anderes Bild ergibt sich, wenn zusätzlicher organischer Kohlenstoff extern als Dünger hinzugefügt wird und durch die Stimulation der Bodenmikroflora höhere Abbauraten für Pflanzenschutzmittelwirkstoffe bewirkt. Von ROUCHAUD *et al.* (1993, 1996, 1997b) wurde eine Reihe derartiger Experimente mit unterschiedlichen Herbiziden durchgeführt. Typischerweise war aufgrund der verstärkten Sorption an Boden zunächst eine Vergrößerung der Halbwertszeiten im Vergleich zu unbehandelten Böden festzustellen. Dies wurde

jedoch mit zunehmender Versuchsdauer durch die verbesserten Lebensbedingungen für die Mikroflora kompensiert, so daß zum Versuchsende keine erhöhten Rückstandsgehalte von Wirkstoffen oder Metaboliten gemessen wurden. Entsprechend führte in der vorliegenden Arbeit eine Präinkubation des Bodens NK284 mit gemahlenem Stroh zu einer merklich schnelleren Abnahme von Prochloraz.

Anhand der Abbauxperimente mit den zwei Neuenkirchener Böden NK284 und NK273 konnte ein Einfluß der Bodentextur auf den Prochloraz-Abbau nicht festgestellt werden. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen von Sorptionsversuchen mit eben diesen Böden. Die unterschiedlichen Tongehalte hatten keine Auswirkungen auf die Sorption von Prochloraz und somit auch nicht auf dessen Bioverfügbarkeit (RÜTTERS *et al.*, 1998). Vergleichbare Untersuchungen, bei denen sich die eingesetzten Böden hauptsächlich in ihrer Textur unterschieden, wurden von DOUSSET *et al.* (1997) mit Terbutylazin und Atrazin durchgeführt. Für beide Substanzen erwiesen sich die jeweiligen DT_{50} -Werte als unabhängig vom Tongehalt des Bodens. Entsprechendes galt auch für die nichtextrahierbaren Rückstände. In der Studie von PIEUCHOT *et al.* (1996) überdeckte der Einfluß des pH-Werts eventuelle Auswirkungen des Tongehalts auf die Abbaurate von Isoproturon.

Prinzipiell können Abbaureaktionen von Umweltchemikalien zwar durch Adsorption an Tonminerale verlangsamt (KNAEBEL *et al.*, 1996; HATZINGER und ALEXANDER, 1997) oder durch katalytische Oberflächen beschleunigt werden (SABADIE, 1997). Offensichtlich wiesen die Tonminerale des untersuchten Neuenkirchener Bodens NK273 jedoch weder den mikrobiellen Abbau verlangsamende Mikroporen auf, noch waren sie in der Lage, chemische Abbaureaktionen von Prochloraz zu katalysieren

Die merkliche Verstärkung des Prochloraz-Abbaus nach der Anreicherung des Bodens NK284 mit gemahlenem Stroh ist ein Hinweis darauf, daß dieser wesentlich auf cometabolischen Prozessen beruht. Dies wird auch dadurch unterstützt, daß bei den ersten Laborversuchen mit ihrer höheren Probennahmefrequenz zu Versuchsbeginn die Abnahme von Prochloraz zwar langsam, jedoch ohne „lag-phase“ erfolgte. Ähnliche Experimente wurden von THOM *et al.* (1997) mit dem Fungizid Difenconazol durchgeführt. Hier deutete die Form der Abnahmekurven auf einen Abbau durch adaptierte Mikroorganismen hin. Die Zugabe von leicht abbaubarer organischer Substanz in Form gemahlener Blätter führte zu einer Verringerung sowohl der DT_{50} -Werte als auch der Akklimatisie-

rungszeit bis zum Einsetzen des Abbaus. Ebenso konstatierte ANDERSON (1994) einen beschleunigten Abbau von Diallat in Böden, deren biotische Aktivität durch Zugabe von Glucose oder eines Kohlehydratgemisches erhöht worden war.

Ein Unterschied zwischen Abbauxperimenten in sterilisierten und mikrobiell aktiven Böden zeigte sich am deutlichsten im Hinblick auf die Mineralisation. Da in ersteren praktisch keine Freisetzung von $^{14}\text{CO}_2$ in 56 Tagen zu beobachten war, belegt dies eindeutig, daß mindestens ein Teilschritt des Totalabbaus von Prochloraz zu CO_2 und Wasser ausschließlich biotischer Natur ist. In der Literatur sind entsprechende Auswirkungen der Bodensterilisation auf den Abbau von Pflanzenschutzmitteln dokumentiert. Sowohl sehr geringe Mineralisationsraten (METZGER *et al.*, 1996) als auch deutlich verminderte Abnahmegeschwindigkeiten der zudosierten Wirkstoffe (BLUMHORST und WEBER, 1994; GENNARI *et al.*, 1995) wurden beobachtet. In Versuchen mit feldfrischem Boden ermittelten STOCKMAIER *et al.* (1997) für das Morpholinfungizid Aldimorph eine schnelle, mit dem Auftreten eines Metaboliten einhergehende Abnahme auf etwa ein Viertel der dosierten Konzentration innerhalb von drei Tagen, während die Aldimorph-Konzentration in sterilisiertem Boden annähernd konstant blieb, und Abbauprodukte nicht nachgewiesen wurden. Eine solche ausschließliche Abhängigkeit der Abnahme von Prochloraz von der mikrobiellen Aktivität des Bodens wurde allerdings in den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Laborabbauxperimenten nicht gefunden. JOHANNESSEN *et al.* (1996) leiteten aus ihren Untersuchungen ein Ineingreifen zunächst abiotischer und anschließend biotischer Prozesse beim Abbau von Ethylenthioharnstoff ab. Analog lieferten die Abnahme von Prochloraz und die zunehmenden Anteile nichtextrahierbarer Rückstände in den Sterilversuchen einen Beleg dafür, daß für die Anfangsschritte des Prochloraz-Abbaus abiotische Vorgänge wesentlich mitverantwortlich und Voraussetzung für die anschließende mikrobielle Mineralisation sind.

Als nichtextrahierbare Rückstände wurden die Anteile an Radioaktivität bezeichnet, die nach einmaliger Extraktion des Bodens mit dem Aceton/Wassergemisch im Extraktionsrückstand gefunden wurden. Den deutlichsten Einfluß auf die Wirkstofffixierung im Boden NK284 hatte die Steigerung der Inkubationstemperatur von 25 auf 30 °C mit einer daraus folgenden annähernden Verdopplung des nichtextrahierbaren Anteils. Dies ist ein stärkerer Effekt als er nach der Arrhenius-Gleichung durch eine Beschleunigung rein chemischer Reaktionen zu erwarten gewesen wäre. PRINTZ *et al.* (1995) führten eine solche Temperaturabhängigkeit bei der Festlegung des Wirkstoffs Methabenzthiazuron

auf eine Aktivierung der Bodenmikroflora zurück. Für Prochloraz belegten andererseits die Ergebnisse der Abbauprobe mit sterilisierten Böden einen abiotischen Anteil von 80-85 % bei der Entstehung nichtextrahierbarer Rückstände. Auch deren nur unwesentliche Zunahme im mit Stroh angereicherten Boden NK284 demonstrierte die diesbezüglich nachrangige Bedeutung der mikrobiellen Aktivität. Daß die Bodentextur auf die Fixierung des Wirkstoffs keinen Einfluß hatte, steht im Einklang mit den Ergebnissen zur Abnahmerate von Prochloraz, der Bildung von Metaboliten und der Sorption (RÜTTERS *et al.*, 1998). Da jedoch anders als bei der Sorption auch keine Abhängigkeit vom C_{org} -Gehalt festgestellt wurde, dürften an der Festlegung von Prochloraz auch solche Prozesse beteiligt sein, die in den Sorptionsexperimenten nicht wirksam wurden. Der große Unterschied im Ausmaß nichtextrahierbarer Rückstände bei den gleichermaßen sauren Nienwohlder Böden NW101/a-c einerseits und NW212T3 andererseits konnte auf der Grundlage der im Rahmen dieser Arbeit ermittelten Bodenkenngrößen nicht gedeutet werden.

Ein Vergleich mit den Morpholinfungiziden Aldimorph und Fenpropimorph, deren Festlegung im Boden NK284 im Rahmen des SFB 179 bereits früher untersucht worden war, demonstriert die starke Abhängigkeit der Bildung nichtextrahierbarer Rückstände von den Substanzeigenschaften. Von Aldimorph lagen bereits nach 18 Tagen 52 % des applizierten Wirkstoffs gebunden vor, was mit dem hohen K_d -Wert dieser Substanz in Verbindung gebracht wurde (STOCKMAIER *et al.*, 1997). Beim strukturell ähnlichen Fenpropimorph betrug dieser Anteil erst nach 64 Tagen 40 % (STOCKMAIER *et al.*, 1996), war aber damit immer noch deutlich höher als bei Prochloraz unter vergleichbaren Bedingungen mit 14,1 % nach 56 Tagen. Von verschiedenen Autoren wurde die Fixierung von Substanzen im Boden darauf zurückgeführt, daß nicht die Ausgangsverbindung selbst, sondern abiotisch oder biotisch gebildete Abbauprodukte an die Matrix gebunden wurden (BLUMHORST und WEBER, 1994; DEC *et al.*, 1997; STREK, 1998a). Angesichts niedriger Abnahmeraten von Prochloraz sowie kleiner Metabolitkonzentrationen bei Laborabbauprobe im Dunkeln erscheint jedoch unter diesen Bedingungen die Bildung nichtextrahierbarer Rückstände direkt aus dem unveränderten Wirkstoff wahrscheinlicher.

Generell konnte die Variation der Bodenparameter keinen Hinweis auf die Ursache der unterschiedlichen Abnahme- und Metabolisierungsraten in Feld- und Laborversuchen liefern. Ein Vergleich derartiger Daten wurde bisher nicht publiziert. Neben den bereits zitierten Halbwertszeiten für Prochloraz unter Feldbedingungen von 6-28 (PERKOW, 1994; ARS/USDA, 1998) bzw. 5-37 Tagen

(TOMLIN, 1994) wird auch ein DT₅₀-Wert von 130 Tagen im Boden genannt (ARS/USDA, 1998). In Bodenschichten zwischen 10 und 30 cm konnten GOTTESBÜREN *et al.* (1992) den Wirkstoff über zwei Vegetationsperioden nachweisen. DISTLER (1991) untersuchte das Verhalten von Prochloraz im Boden nach der Saatgutbeizung von Getreide und ermittelte über einen Zeitraum von 8 Wochen lediglich eine geringe Abnahme der Wirkstoffkonzentration auf 83,7-86,8 % sowie eine Bildung von maximal 4,4 % Prochloraz-Harnstoff. Somit waren für die deutlich schnelleren Abbaureaktionen unter Feldbedingungen zusätzliche, bisher nicht betrachtete Einflußgrößen verantwortlich.

4.4 Laborversuche zum Abbau von Prochloraz bei Bestrahlung mit UV-Licht

4.4.1 Vorversuche mit einer handelsüblichen „Heimsonne“

Die Abbauprobversuche unter UV-Bestrahlung im offenen System wurden durchgeführt, um zu überprüfen, inwieweit Licht ein bedeutsamer Parameter für den Prochloraz-Abbau unter Feldbedingungen ist. In den Extrakten beider Böden konnte nach 24-stündiger Inkubation der Metabolit Prochloraz-Formylharnstoff in Anteilen von 2,1 % (NK284) bzw. 1,4 % (NW212T3) der insgesamt extrahierten Radioaktivität nachgewiesen werden. Der in Tabelle 4.5 gezeigte Vergleich mit den Ergebnissen der Feldversuche mit NK284 und NW212T3 ohne UV-Bestrahlung (Kapitel 4.3.3) unterstützt die Annahme, daß zumindest die Bildung von Prochloraz-Formylharnstoff durch Belichtung gefördert wird.

Eine Bestimmung der Mineralisation war aufgrund des offenen Versuchssystems nicht möglich. Mit Wiederfindungsraten von 82,4 % in NK284 und 89,7 % in NW212T3 deuten die Bilanzen der beiden Versuche allerdings darauf

Tabelle 4.5

Anteile von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH), Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H) und des unbekannten polaren Metaboliten (unbk1) in Bodenextrakten verschiedener Laborabbauversuche nach 24-stündiger Inkubation

	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H	unbk1
NK284, UV	90,1 %	2,1 %	0,7 %	0,6 %
NK284	95,4 %	n.n.	n.n.	0,8
NW212T3, UV	92,3 %	1,5 %	0,5 %	0,6 %
NW212T3	93,9 %	0,8 %	0,4 %	0,9 %

hin, daß die Freisetzung von $^{14}\text{CO}_2$ etwas höher als bei den nicht bestrahlten Abbauxperimenten lag.

4.4.2 Versuche mit detaillierter Bilanzierung in der Bestrahlungsapparatur

Bei den ersten beiden Abbauxversuche in der Bestrahlungsapparatur wurde ein Quarzglas-Kühlmantel für die UV-Lampe eingesetzt. Somit wurden die Bodenproben einer Strahlung ausgesetzt, die im Vergleich zur natürlichen Sonnenstrahlung zusätzlich kurzwellige Anteile unterhalb von $\lambda < 290 \text{ nm}$ enthielt. Die nach einer Bestrahlungsdauer von 8 h innerhalb von 20 h Inkubationsdauer gefundenen Anteile an Prochloraz, Prochloraz-Metaboliten, freigesetztem $^{14}\text{CO}_2$ und nichtextrahierbaren Rückständen sowie die entsprechenden Werte für nichtbestrahlte Kontrollproben sind in Tabelle 4.6 zusammengestellt.

Tabelle 4.6

Anteile von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH), Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H), des unbekannten polaren Metaboliten (unbk1) sowie von Mineralisation (Min) und nichtextrahierbaren Rückständen (neR) in verschiedenen Böden nach 20-stündiger Inkubation (UV-Bestrahlung: 8 h durch Quarzglas-Kühlmantel)

	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H	unbk1	Min	neR
NK284, UV	67,1 %	4,6 %	1,9 %	1,1 %	4,8 %	9,0 %
NK284	86,7 %	0,4 %	0,3 %	0,7 %	0,0 %	2,1 %
NW212T3, UV	80,6 %	2,1 %	0,9 %	0,6 %	2,1 %	6,8 %
NW212T3	83,6 %	0,3 %	0,2 %	0,4 %	0,1 %	3,1 %

Offensichtlich hatte die Bestrahlung vor allem beim Boden NK284 einen merklich schnelleren Abbau von Prochloraz zur Folge. Gegenüber der Kontrollprobe waren sowohl die Metabolitengehalte als auch das Ausmaß von Mineralisation und nichtextrahierbaren Rückstände deutlich vergrößert. Insbesondere belegen die im Vergleich zu allen vorherigen Laborabbauxversuchen signifikant höheren Gehalte an Prochloraz-Formylharnstoff, daß Licht bei der Bildung dieses Abbauprodukts eine entscheidende Rolle spielt.

Trotz der hohen Energie der UV-Strahlung mit Wellenlängen $\lambda < 290 \text{ nm}$ blieb die mikrobielle Bodenaktivität auch unter Bestrahlungsbedingungen in einem für Ackerböden typischen Bereich. Ausgehend vom Referenzwert von $129 \mu\text{g TPF}$ für den Boden im Vorratsgefäß mit einem Wassergehalt von 3,9 % wurde nach

Einstellung des Wassergehalts auf 13,2 % und einer Bestrahlungsdauer von insgesamt 8 h eine Dehydrogenaseaktivität von 135 µg TPF erhalten. Eine entsprechend befeuchtete und danach im Dunkeln inkubierte Kontrollprobe lieferte ein Ergebnis von 171 µg TPF. Beim Vergleich dieser Werte ist jedoch zu berücksichtigen, daß der Wassergehalt der bestrahlten Probe nach der Inkubation nur noch 6,7 % betrug. Unter diesen Bedingungen konnte zwar keine Zunahme der Aktivität wie in der unbestrahlten Probe verzeichnet werden, andererseits aber auch keine Abnahme im Vergleich zum eingesetzten Referenzboden. Somit konnten die Böden bei den Abbauversuchen in der Bestrahlungsapparatur über die jeweilige Versuchsdauer hin als mikrobiell ausreichend aktiv angesehen werden.

Tabelle 4.7

Anteile von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH), Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H), des unbekannten polaren Metaboliten (unbk1) sowie von Mineralisation (Min) und nichtextrahierbaren Rückständen (neR) in verschiedenen Böden bei unterschiedlicher Bestrahlungsdauer (UV-Bestrahlung durch Pyrex®-Kühlmantel)

	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H	unbk1	Min	neR
NK284, 8 h UV	82,2 %	4,6 %	1,2 %	0,6 %	0,2 %	2,4 %
NK284, 14 h UV	81,8 %	6,7 %	2,0 %	0,7 %	0,3 %	3,0 %
NK284, 24 h UV	57,8 %	12,4 %	3,4 %	0,5 %	0,7 %	6,6 %
NK284, 24 h UV, steril	68,8 %	6,0 %	1,3 %	0,2 %	0,2 %	4,1 %
NW212T3, 8 h UV	73,7 %	2,4 %	1,1 %	1,2 %	0,2 %	7,7 %
NW212T3, 14 h UV	67,4 %	3,3 %	1,7 %	1,7 %	0,2 %	11,2 %

In den weiteren Abbauversuchen wurde der Quarzglas-Kühlmantel in der Bestrahlungsapparatur durch einen Pyrex®-Kühlmantel ersetzt. Mit seinem Cut-off bei $\lambda = 290$ nm konnte ein näher an den Feldbedingungen liegendes Strahlungsspektrum realisiert werden. Auch unter diesen Bedingungen zeigten sich die gleichen Effekte wie bei der Verwendung des Quarzglas-Kühlmantels. Mit steigender Belichtungsdauer nahm der Anteil von Prochloraz-Formylharnstoff in beiden untersuchten Böden zu. Entsprechende Tendenzen waren auch für die Abnahme des Prochloraz-Gehalts und für die Zunahme der weiteren Metabolite, der Mineralisation und der nichtextrahierbaren Rückstände zu verzeichnen (Tabelle 4.7). Wie schon zuvor beobachtet, wurde im Boden NK284 stets mehr Prochloraz-Formylharnstoff gebildet als im Boden NW212T3. Hingegen wurde bezüglich der nichtextrahierbaren Rückstände bei Verwendung

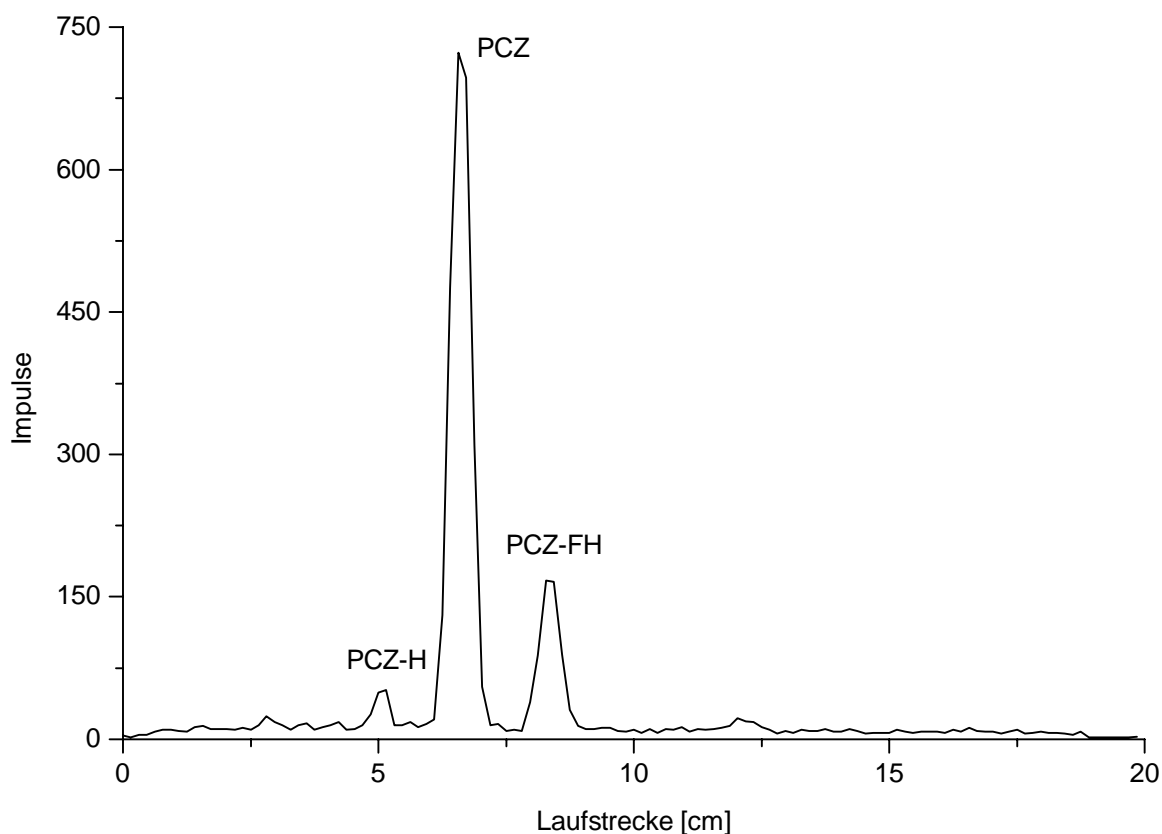


Abbildung 4.13

Dünnschichtchromatogramm des Extraktes aus dem Abbauersuch mit mikrobiell aktivem Boden NK284 unter UV-Bestrahlung (24 h Bestrahlungsdauer; PCZ - Prochloraz; PCZ-FH - Prochloraz-Formylharnstoff; PCZ-H - Prochloraz-Harnstoff; Entwicklung im Laufmittelsystem A, Toluol/Ethanol)

des Pyrex®-Kühlmantels eine deutlich stärkere Bildung im Boden NW212T3 beobachtet.

Anhand zweier paralleler Abbauersuche mit feldfrischem und sterilisiertem Boden NK284 konnte der Einfluß der mikrobiellen Bodenaktivität auf den lichtinduzierten Abbau von Prochloraz ermittelt werden. Bei der Verwendung von feldfrischem Boden und 24-stündiger Bestrahlung wurde mit 12,4 % der höchste Anteil an Prochloraz-Formylharnstoff von allen durchgeführten Laborabbauersuchen gefunden (Abbildung 4.13). Wurde sterilisierter Boden eingesetzt, war dieser Wert mit 6,0 % nur noch halb so groß (Tabelle 4.7). Dieses Verhältnis war auch bei den Gehalten der übrigen erfaßten Abbau- und Umsetzungsprodukte zu beobachten.

4.4.3 Diskussion des Einflusses von Licht auf die Rückstandsdynamik von Prochloraz

Anhand der in der Bestrahlungsapparatur durchgeführten Abbauversuche konnte eindeutig belegt werden, daß Licht der wichtigste Parameter für die Bildung des primären Metaboliten Prochloraz-Formylharnstoff aus Prochloraz ist. Einen dafür in Frage kommenden Mechanismus stellt die direkte Photolyse des Wirkstoffmoleküls dar. Ebenso möglich sind jedoch auch indirekte Prozesse, bei denen der Abbau der Substanz durch reaktive Spezies erfolgt, die bei der Bestrahlung von Bodenbestandteilen gebildet werden. BARRETT (1995) fand nach 2-tägiger Inkubation unter täglich 16-stündiger Belichtung in Sediment/Wasser-Systemen zwischen 7 und 13 % Prochloraz-Formylharnstoff. Diese Werte liegen in der gleichen Größenordnung wie die bei 24-stündiger Belichtung in mikrobiell aktivem Boden NK284 gefundenen 12,4 % dieses Abbauprodukts. Eine direkte Photolyse verläuft jedoch auf Bodenoberflächen unter anderem infolge der Lichtabsorption durch Bodenpartikel langsamer als in Lösung (MURTHY *et al.*, 1998), so daß hier ein indirekter Photoabbau wahrscheinlicher erscheint. Weiterhin spricht das UV-Spektrum von Prochloraz mit einem einzigen Absorptionsmaximum bei $\lambda_{\max} = 205 \text{ nm}$ (Abbildung 4.2) für diese Annahme, auch wenn andererseits der Wirkstoff als nicht photostabil in Lösung eingestuft wird (TOMLIN, 1994; ARS/USDA, 1998). In einer Studie zum Herbizid Chlorsulfuron konstatierte STREK (1998a) auf einer belichteten Bodenoberfläche sogar einen schnelleren Abbau als bei Photolyse in Lösung, woraus er auf einen indirekten Mechanismus schloß. Beim Insektizid Fenprothrin äußerte sich der Einfluß photoinduziert gebildeter reaktiver Spezies hingegen in einer vergleichsweise geringfügigen Beschleunigung des primär pH-abhängigen abiotischen Abbaus (KATAGI, 1993).

Bei den Betrachtungen zum Photoabbau von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen auf Bodenoberflächen wurden bisher fast ausschließlich abiotische Reaktionen berücksichtigt (PARLAR, 1990). Der Vergleich der Ergebnisse der jeweils 24 h bestrahlten Abbauversuche mit einerseits feldfrischem und andererseits sterilisiertem Boden NK284 lieferte jedoch einen deutlichen Hinweis darauf, daß der Einfluß der Bodenmikroflora auch unter diesen Bedingungen nicht zu vernachlässigen ist. SAHA und SUKUL (1997) postulierten einen mikrobiellen Einfluß auf die Abbauraten von Metalaxyl unter Belichtung, führten in ihrer Studie allerdings keine Kontrolluntersuchungen mit sterilisierten Böden durch. ROMERO *et al.* (1998) gingen bei ihren Experimenten mit Mecoprop auf nicht sterilen Bodenoberflächen unter Sonnenlicht von einer Konkurrenz biotischer

und abiotischer Abbaureaktionen aus. In der Arbeit von MISRA *et al.* (1997) wurde der Abbau von Chloramben auf sterilisiertem und nicht sterilisiertem Boden bei konstanter Temperatur und Bodenfeuchtigkeit über einen längeren Zeitraum unter Bestrahlung untersucht. Dabei war der DT₅₀-Wert im mikrobiell aktiven Boden nur halb so groß wie im sterilen, während die entsprechenden Werte bei unbestrahlten Kontrollexperimenten praktisch miteinander identisch und dazu deutlich höher als unter Belichtung waren. Ein „photolytisch induzierter Bioabbau“ wurde dafür als Deutung angeführt. Für Prochloraz erscheint eine Beteiligung biotischer Prozesse an der Entstehung von Prochloraz-Formylharnstoff noch aus weiteren Gründen plausibel. Die Substanz trat als primäres Stoffwechselprodukt beim Abbau von Prochloraz in Ratten auf (NEEDHAM und CHALLIS, 1991; LAIGNELET *et al.*, 1992) und wurde ebenso bei Inkubation eines Stammes von *Aureobacterium* sp. auf einem Prochloraz enthaltendem Nährmedium gebildet (BOCK *et al.*, 1996). In Sproßextrakten von Winterweizen konnte DISTLER (1991) drei Tage nach Applikation 25,3 % Prochloraz-Formylharnstoff nachweisen. Hierdurch wird belegt, daß eine Bildung von Prochloraz-Formylharnstoff auf biotischem Weg prinzipiell möglich ist. Die Existenz dieses Abbaupfades in so verschiedenen Organismen läßt zudem die Annahme zu, daß auch im Boden Mikroorganismen auftreten, die in der Lage sind, wenigstens nach photochemischer Aktivierung Prochloraz zu Prochloraz-Formylharnstoff umzuwandeln.

Die Abbauprobe mit dem Boden NW212T3 lieferten durchweg niedrigere Gehalte an Prochloraz als die entsprechenden Experimente mit dem Boden NK284. Dennoch war der Anteil an Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff hier nicht höher, sondern ebenfalls niedriger, was durch eine verstärkte Bildung nichtextrahierbarer Rückstände kompensiert wurde. Analog den Abbauprobe im Dunkeln dürfte dies auf den Einfluß des pH-Wertes zurückzuführen sein. Die beobachteten Tendenzen bei den Abbauprodukten ähnelten denjenigen, die bei den Versuchen mit NK284 und NW212T3 im Dunkeln festgestellt worden waren, mit dem Unterschied, daß unter Belichtung vergleichsweise mehr nichtextrahierbare Rückstände und geringere Mengen des unbekannten polaren Metaboliten gebildet wurden. Beschleunigte Abbauprobe unter Belichtung bei qualitativ gleichbleibendem Einfluß der Bodenparameter beobachteten auch SMITH *et al.* (1978) beim abiotischen Abbau von Methidathion auf dünnen Bodenschichten. Gegenläufige pH-Abhängigkeiten der direkten Photolyse fanden NAG und DUREJA (1996) bei Triadimefon mit steigenden sowie CHOUDHURY und DUREJA (1997) bei Chlorimuron-ethyl mit sinkenden Abbauraten. Bei Prochloraz zeigte sich sowohl ein quantitativer wie

auch ein qualitativer Einfluß des pH-Werts. Eine mögliche Deutung dafür ist die Förderung alternativer Abbaupfade durch das Zusammenwirken von niedrigem pH-Wert und Bestrahlung sowie eine verstärkte Festlegung der entsprechenden Reaktionsprodukte an der Bodenmatrix.

5 Zusammenfassung

Zielsetzung der vorliegenden Arbeit war es, das Abbauverhalten des Azolfungizids Prochloraz in Böden zu untersuchen. Grundlage für die Bearbeitung dieser Fragestellung war die Entwicklung einer Analysenmethode für den Wirkstoff Prochloraz und seine bekannten Metabolite, insbesondere für Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff. Diese Methode basierte in Anlehnung an die DFG-Multimethode S19 auf einer Bodenextraktion mit Aceton/Wasser, einer Flüssig/flüssig-Verteilung mit Cyclohexan und einer Aufreinigung über Gelpermeationschromatographie und Mini-Kieselgelsäule.

Es wurde zunächst versucht, Prochloraz und seine Metabolite Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff in den Extrakten mittels Gaschromatographie mit Elektroneneinfangdetektor (GC/ECD) oder massenspezifischer Detektion (GC/MS) nachzuweisen. Allerdings erwies sich der Wirkstoff als zu thermolabil für die GC mit Split/splitless-Injektion oder Kaltaufgabesystem. In Gegenwart protischer Lösemittel (Methanol oder höhere Alkohole) wurde teilweise ein Carbamat als thermisches Artefakt gebildet. Eine zersetzungsfreie Gaschromatographie von Prochloraz gelang zwar mit der schonenden On column-Injektion, jedoch wurde auch unter diesen Bedingungen ein thermischer Zerfall der Metabolite beobachtet. Verschiedene Versuche zur Alkylierung oder Acylierung der Substanzen führten nicht zu gaschromatographierbaren Derivaten.

Zum Nachweis von Prochloraz und seinen Metaboliten wurde daher die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit Diodenarraydetektion (HPLC/DAD) eingesetzt. Die Trennung erfolgte mit einem auf pH 8 gepufferten Acetonitril/Wasser-Gradienten auf einer speziellen Reversed Phase-Säule. Für die Detektion wurde die UV-Absorption bei einer Wellenlänge von $\lambda = 205$ nm ausgewählt, wobei zur Substanzidentifizierung zusätzlich das gesamte aufgenommene UV-Spektrum herangezogen wurde. Die vergleichsweise geringe Selektivität bei dieser niedrigen Detektionswellenlänge wurde durch eine hohe Sensitivität kompensiert, so daß mit dem Analysenverfahren Substanzbestimmungen bis hinab zu einer Konzentration von $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ Boden möglich waren.

Weiterhin wurde eine dünnenschichtchromatographische Methode für die Bestimmung von Prochloraz, Prochloraz-Formylharnstoff und Prochloraz-Harnstoff in Bodenextrakten aus Laborabbauexperimenten mit ^{14}C -markiertem Wirkstoff entwickelt. Die Trennung erfolgte auf kieselgelbeschichteten DC-

Platten, dabei wurden zur Absicherung der Ergebnisse mit Toluol/Ethanol 15:1 (v/v) und Ethylacetat/Hexan 3:1 (v/v) zwei verschiedene Laufmittelsysteme eingesetzt. Für den Nachweis der radioaktiv markierten Substanzen kam ein Linear Analyzer mit ortsempfindlichem Proportionalzählrohr zum Einsatz.

Zur Bestimmung der Rückstandsdynamik von Prochloraz unter Feldbedingungen wurde der Wirkstoff in den Jahren 1995 und 1996 jeweils an zwei Standorten mit unterschiedlichen Böden praxisüblich appliziert. Über eine Versuchsdauer von zwei Monaten wurden anschließend die Abnahme der Wirkstoffkonzentration und die Bildung von Metaboliten verfolgt. In allen vier Fällen kam es kurz nach der Applikation zu einem raschen Anstieg der Konzentrationen von Prochloraz-Formylharnstoff, die nach 3 bis 14 Tagen ein Maximum durchliefen und danach wieder absanken. Direkt ab Versuchsbeginn war eine Abnahme der Prochloraz-Konzentrationen ohne „lag phase“ zu verzeichnen. Die berechneten DT₅₀-Werte lagen in drei Fällen zwischen 11 und 13 Tagen und einmal bei 43 Tagen. Die Konzentrationen des Metaboliten Prochloraz-Harnstoff stiegen jeweils über die Versuchsdauer stetig an und lagen zum Schluß im Bereich der zu Versuchsbeginn gefundenen Prochloraz-Konzentrationen.

Bei Laborabbauversuchen im Dunkeln konnten weder die schnelle Abnahme von Prochloraz in den Feldversuchen noch die Bildung des Metaboliten Prochloraz-Formylharnstoff nachvollzogen werden. Durch Experimente mit unterschiedlichen, teilweise vor Versuchsbeginn modifizierten Böden wurde der Einfluß verschiedener Parameter auf den Abbau von Prochloraz innerhalb von 56 Tagen untersucht. Die Erhöhung der Inkubationstemperatur von 25 auf 30 °C bewirkte sowohl eine stärkere Abnahme von Prochloraz als auch eine Verdopplung der nichtextrahierbaren Rückstände. In sauren Böden war die Mineralisation mit maximal 3,2 % der applizierten Radioaktivität stets wesentlich geringer als in neutralen bis basischen Böden mit bis zu 18,3 %. Außerdem wurden in ersteren deutlich höhere Anteile eines unbekannten polaren Metaboliten gefunden. Ein erhöhter Tongehalt des Bodens hatte keinen Einfluß auf Abbau, Metabolisierung, Mineralisation oder Festlegung von Prochloraz. Ebenso waren auch bei Experimenten mit drei Böden unterschiedlichen C_{org}-Gehaltes keine Auswirkungen dieses Parameters auf die Rückstandsdynamik des Wirkstoffes zu erkennen. In Versuchen mit sterilisierten Böden konnte gezeigt werden, daß abiotische Prozesse wesentlich an der Abnahme der Wirkstoffkonzentration und an der Bildung nichtextrahierbarer Rückstände, nicht jedoch an der Mineralisation beteiligt waren. Die Erhöhung der mikrobiellen Bodenaktivität über eine Anreicherung mit gemahlenem Stroh

wirkte sich am stärksten auf die Abnahme von Prochloraz, weiterhin auf die Bildung des sekundären Metaboliten Prochloraz-Harnstoff sowie in geringerem Ausmaß auf Mineralisation und Bildung nichtextrahierbarer Rückstände aus.

Da die Variation der Bodeneigenschaften keine Erklärungen für die Diskrepanzen hinsichtlich Abbaurate und Metabolisierung zwischen Feld- und Laborversuchen liefern konnte, wurde als weiterer Parameter der Einfluß des Lichts untersucht. Dafür wurde eine Apparatur konstruiert, die eine Bestrahlung von Boden in einem geschlossenen System und damit bei Einsatz der Radio-tracertechnik eine detaillierte Bilanzierung zuließ. Abhängig von der Bestrahlungsdauer wurde vor allem in den Neuenkirchener Böden eine verstärkte Bildung des primären Metaboliten Prochloraz-Formylharnstoff registriert, der bei den Abbauversuchen im Dunkeln nur in sehr geringen Konzentrationen aufgetreten war. In einem mikrobiell aktiven Boden betrug sein Anteil nach 24-stündiger Bestrahlung 12,4 % der applizierten Radioaktivität. In einem sterilisierten Boden unter ansonsten identischen Bedingungen lag dieser Anteil bei 6,0 % nach 24 h.

Unter Berücksichtigung aller Einzelergebnisse kann die Rückstandsdynamik von Prochloraz in Böden wie folgt charakterisiert werden: Der Wirkstoff wird nach der Applikation unter dem Einfluß von Licht schnell zum primären Metaboliten Prochloraz-Formylharnstoff abgebaut. Bei der Bildung dieses Metaboliten wirken photochemische und mikrobielle Prozesse zusammen, während die Hydrolyse von Prochloraz-Formylharnstoff zu Prochloraz-Harnstoff wahrscheinlich vornehmlich auf biotischem Weg abläuft. An der vollständigen Mineralisation des Wirkstoffes ist mindestens ein ausschließlich biotischer Schritt beteiligt. Neben der mikrobiellen Aktivität hat von den sonstigen untersuchten Bodeneigenschaften nur der pH-Wert einen erkennbaren Einfluß auf die Rückstandsdynamik von Prochloraz. Insgesamt ist dieses Fungizid auf bestrahlten Bodenoberflächen als unbeständige Verbindung einzustufen, wohingegen es in Abwesenheit von Licht eine sehr viel größere Persistenz aufweist.

6 Literatur

- AGNIHOTRI, N. P. und A. K. BAROOAH (1994): Bound residues of pesticides in soil and plant - a review. *J. Sci. Ind. Res.*, **53(11)**, 850-861.
- ALEXANDER, M. (1995): How Toxic Are Toxic Chemicals in Soil? *Environ. Sci. Technol.*, **29(11)**, 2713-2717.
- ALONSO-ALLENDE, A. (1981): Análisis de residuos de pesticidas en vino. *Quim. Ind. (Madrid)*, **27(2)**, 103-105.
- ANDERSON, J. P. E. (1987): Handling and storage of soils for pesticide experiments. In: *Pesticide Effects on Soil Microflora* (L. Somerville und M. P. Greaves, Hrsg.), Kap. 3, Taylor & Francis, London New York Philadelphia, 45-60.
- ANDERSON, J. P. E. (1994): Kinetics of pesticide biodegradation in soils: principles and applications. In: *Proceedings of the 5th International Workshop „Environmental Behaviour of Pesticides and Regulatory Aspects“* (A. Copin, Hrsg.), European Study Service, Risxensart, 211-221.
- ANDREUX, F., M. SCHIAVON, C. MUNIER-LAMY, M. MANSOUR und I. SCHEUNERT (1995): Factors affecting the movements, reactions, and biotransformations of xenobiotics. In: *Environmental Impact of Soil Component Interactions* (P. M. Huang, Hrsg.), Volume 1, Lewis, Boca Raton, 383-408.
- ANONYM (1998): Pflanzenschutzmittel - Wirkstoffmenge in EU-Ländern rückläufig. *CHEManager*, **2/98**, 2.
- ARS/USDA - U.S. Dept. of Agriculture, Agricultural Research Service (1998): Pesticide Properties Database (<http://www.arsusda.gov/rsml/ppdb.html>).
- BAHADIR, M., W. KLEIN, J. P. LAY, H. PARLAR und I. SCHEUNERT (1992): Lehrbuch der Ökologischen Chemie (F. Korte, Hrsg.), 3. Aufl., Georg Thieme Verl., Stuttgart New York, 373 S.
- BAILLIE, A. C. (1987): Prochloraz and Its Analogs. In: *Synthesis and Chemistry of Agrochemicals* (D. R. Baker, J. G. Fenyes, W. K. Moberg und B. Cross, Hrsg.), 355, American Chemical Society, Washington DC, 328-339.
- BARRETT, K. L. (1995): A comparison of the fate and effects of prochloraz in artificial and natural sediments. *J. Aquat. Ecosyst. Health*, **4(4)**, 239-248.

- BAUMANN, R. A., G. F. ERNST, J. T. A. JANSEN, A. DE KOK, P. D. A. OLT HOF, L. G. M. T. TUINSTRA, W. VERWAAL, P. VAN ZOONEN und F. HERNANDEZ HERNANDEZ (1991): Development of a multiresidue method for nitrogen-containing pesticides - Part 1: Preliminary results. *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **339**, 357-364.
- BBA - Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (1992): Bewertung von Pflanzenschutzmitteln im Zulassungsverfahren. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtsch., Berlin-Dahlem*, **284**, 141 S.
- BECK, T. (1984): Mikrobiologische und chemische Charakterisierung landwirtschaftlich genutzter Böden - I. Mitteilung: Die Ermittlung einer bodenmikrobiologischen Kennzahl. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.*, **147**, 456-475.
- BECK, A. J., H. STOLTING, G. L. HARRIS, K. R. HOWSE und K. C. JONES (1996): Leaching of Recently Applied and Aged Residues of the Herbicides Atrazine and Isoproturon through a Large, Structured Clay Soil. *Chemosphere*, **33(7)**, 1297-1305.
- BERNAL, J. L., M. J. DEL NOZAL, J. ATIENZA und J. J. JIMENEZ (1992): Multidetermination of PCBs and pesticides by use of a dual GC column-dual detector system. *Chromatographia*, **33(1-2)**, 67-76.
- BEWICK, D. (1994): The mobility of pesticides in soil - studies to prevent groundwater contamination. *Chem. Plant Prot.*, **9**, 57-86.
- BIRCHMORE, R. J., R. F. BROOKES, L. G. COPPING und W. H. WELLS (1977): BTS 40 542 - a new broad spectrum fungicide. In: *Brighton Crop Prot. Conf. - Pests Dis.*, **2**, 593-598.
- BITTNER, M., W. LORENZ und M. BAHADIR (1993): Solvent waste recycling and control analysis of selected chemical institutes at the Technical University of Braunschweig. *Fresenius Environ. Bull.*, **2**, 653-658.
- BOCK, C., R. M. KROPPESTEDT, U. SCHMIDT und H. DIEKMANN (1996): Degradation of prochloraz and 2,4,6-trichlorophenol by environmental bacteria strains. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **45**, 257-262.
- BOLLAG, J.-M. und S.-Y. LIU (1990): Biological Transformation Processes of Pesticides. In: *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impact and Modeling* (H. H. Cheng, Hrsg.), Soil Science Society of America, Madison WI, 169-211.
- BRODESSER, J., S. PELDSZUS und H. F. SCHÖLER (1990): Gas chromatographic determination of urea herbicides. *Vom Wasser*, **74**, 119-125.

- BUNTE, D. (1991): Abbau- und Sorptionsverhalten unterschiedlich persistenter Herbizide in Abhängigkeit von Flächenvariabilität und Alter der Rückstände. Dissertation, Universität Hannover, 165 S.
- BURTH, U., B. FREIER, B. PALLUT und V. GUTSCHE (1994): Anforderungen an den integrierten Pflanzenschutz im Ackerbau. *Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienstes*, **46(1)**, 16-18.
- CALVET, R. und E. BARRIUSO (1994): Retention and bioavailability of pesticides in soil. In: *Proceedings of the 5th International Workshop „Environmental Behaviour of Pesticides and Regulatory Aspects“* (A. Copin, Hrsg.), European Study Service, Risxensart, 63-71.
- CAMBON, J.-P., J. BASTIDE und D. VEGA (1998): Mechanism of Thifensulfuron-methyl Transformation in Soil. *J. Agric. Food Chem.*, **46(3)**, 1210-1216.
- Campro-Scientific (1996): Zertifikat für [Ring-U-¹⁴C]Prochloraz, Batch 1768017ES
- CASSIDY, R. M., D. S. LEGAY und R. W. FREI (1974): Analysis of Phenols by Derivatization and High-Speed Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. Sci.*, **12**, 85-89.
- CELI, L., M. GENNARI, M. SCHNITZER und S. U. KHAN (1997): Extractable and Nonextractable (Bound) Residues of Acifluorfen in an Organic Soil. *J. Agric. Food Chem.*, **45(9)**, 3677-3680.
- CHOUDHURY, P. P. und P. DUREJA (1997): Studies on Photodegradation of Chlorimuron-Ethyl in Soil. *Pestic. Sci.*, **51(2)**, 201-205.
- CHUNG, N. und M. ALEXANDER (1998): Differences in Sequestration and Bioavailability of Organic Compounds Aged in Dissimilar Soils. *Environ. Sci. Technol.*, **32(7)**, 855-860.
- COHEN, S. Z., S. M. CREEGER, R. F. CARSEL und C. G. ENFIELD (1984): Potential Pesticide Contamination of Groundwater from Agricultural Uses. In: *Treatment and Disposal of Pesticide Wastes* (R. F. Krueger und J. N. Sieber, Hrsg.), ACS Symposium Series 259, American Chemical Society, Washington D.C., 297-325.
- COOPER, W. J., R. G. ZIKA, R. G. PETASNE und A. M. FISCHER (1989): Sunlight-Induced Photochemistry of Humic Substances in Natural Waters: Major Reactive Species. In: *Aquatic Humic Substances. Influence on Fate and Treatment of Pollutants* (I. H. Suffet und P. MacCarthy, Hrsg.), Advances in Chemistry Series No. 219, American Chemical Society, Washington D.C., 333-362.

- COPPING, L. G., R. J. BIRCHMORE, K. WRIGHT und D. H. GODSON (1984): Structure-Activity Relationships in a Group of Imidazole-1-carboxamides. *Pestic. Sci.*, **15**, 280-284.
- DAVIS, B. A. (1978): Dansylation of amines, phenolic and catecholic amines and amino acids in aprotic solvents. *J. Chromatogr.*, **151**, 252-255.
- DE PAOLI, M., M. TACCHEO BARBINA, V. DAMIANO, D. FABBRO und R. BRUNO (1997): Simplified determination of combined residues of prochloraz and its metabolites in vegetable, fruit and wheat samples by gas chromatography. *J. Chromatogr. A*, **765**, 127-131.
- DEC, J., K. HAIDER, V. RANGASWAMY, A. SCHÄFFER, E. FERNANDES und J.-M. BOLLAG (1997): Formation of Soil-Bound Residues of Cyprodinil and Their Plant Uptake. *J. Agric. Food Chem.*, **45**(2), 514-520.
- DFG - Deutsche Forschungsgemeinschaft (1991a): Gaschromatographische Bestimmung von Organochlor- und Organophosphor-Verbindungen sowie stickstoffhaltigen und anderen Pflanzenschutzmitteln nach Reinigung durch Gelchromatographie und an einer Mini-Kieselgel-Säule. In: *Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln*, 9. Aufl., Abschnitt S19, 36 S.
- DFG - Deutsche Forschungsgemeinschaft (1991b): Statistische Beurteilung von Analysenverfahren und Analyseergebnissen. In: *Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln*, 11. Aufl., Abschnitt XI, VCH Weinheim, 14 S.
- DIAZ DIAZ, R., C. GAGGI, J. C. SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ und E. BACCI (1995): The role of soil and active ingredient properties in degradation of pesticides - a preliminary assessment. *Chemosphere*, **30**(12), 2375-2386.
- DIECKMANN, H., R. KREUZIG und M. BAHADIR (1994): Significance of keto-enol-tautomerism in the analysis of 1,2,4-triazinone metabolites. *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **348**, 749-753.
- DISTLER, B. (1991): Verhalten und Verbleib von Prochloraz nach Saatgutbeizung von Getreide. Dissertation, Universität Hohenheim, 98 S.
- DORN, E. (1984): Über Strategie der Metabolit-Analytik für die Pflanzenschutzforschung. *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **317**, 595-596.
- DOUSSET, S., C. MOUVET und M. SCHIAVON (1997): Degradation of [¹⁴C]Terbutylazine and [¹⁴C]Atrazine in Laboratory Soil Microcosms. *Pestic. Sci.*, **49**(1), 9-16.
- FALES, H. M., T. M. JAOUNI und J. F. BABASHAK (1973): Simple Device for Preparing Ethereal Diazomethane without Resorting to Codistillation. *Anal. Chem.*, **45**(13), 2302-2303.

- FELSOT, A. S. und D. R. SHELTON (1993): Enhanced Biodegradation of Soil Pesticides: Interactions Between Physicochemical Processes and Microbial Ecology. In: *Sorption and Degradation of Pesticides and Organic Chemicals in Soil* (D. M. Linn, Hrsg.), SSSA Special Publication No. 32, Kap. 13, Soil Science Society of America, Madison WI, 227-251.
- FRANK, T. und H.-P. MALKOMES (1993a): Mikrobielle Aktivitäten in landwirtschaftlich genutzten Böden Niedersachsens. I. Einfluß der ackerbaulichen Nutzung. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.*, **156**, 485-490.
- FRANK, T. und H.-P. MALKOMES (1993b): Mikrobielle Aktivitäten in landwirtschaftlich genutzten Böden Niedersachsens. II. Bodencharakterisierung anhand mikrobieller Stoffwechselaktivitäten. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.*, **156**, 491-494.
- FRITZ, R. und M. SPITELLER (1993): Metabolismusforschung für den Umweltschutz. *Labor 2000*, **1993**, 20-31.
- FÜHR, F. (1987): Non-extractable pesticide residues in soil. In: *Pesticide Science and Biotechnology* (R. Greenhalgh und T. R. Roberts, Hrsg.), Blackwell Science Publications, Oxford, 381-389.
- GAILLARDON, P. und M. SABAR (1994): Changes in the concentration of isoproturon and its degradation products in soil and soil solution during incubation at two temperatures. *Weed Res.*, **34(4)**, 243-250.
- GELSOMINO, A., B. PETROVICOVÁ, S. TIBURTINI, E. MAGNANI und M. FELICI (1997): Multiresidue analysis of pesticides in fruits and vegetables by gel permeation chromatography followed by gas chromatography with electron-capture and mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A*, **782**, 105-122.
- GENNARI, M., M. NÈGRE und A. CIGNETTI (1995): Method of analysis of the tolclofos-methyl in the soil. Application in a study of degradation in controlled conditions. *Fresenius Environ. Bull.*, **4**, 521-526.
- GILCHRIST, G. F. R., D. S. GAMBLE, H. KODAMA und S. U. KHAN (1993): Atrazine Interactions with Clay Minerals: Kinetics and Equilibria of sorption. *J. Agric. Food Chem.*, **41(10)**, 1748-1755.
- GOTTESBÜREN, B., W. PESTEMER, G. KREUZIG und W. EBING (1992): Die Pflanzenschutzmittel-Rückstandssituation im Boden bei der Fruchtfolge Winterweizen-Wintergerste-Zuckerrübe nach unterschiedlichen Bewirtschaftungskonzepten. *Ber. Landwirtschaft.*, **70**, 259-279.

- GREENHALGH, R. und J. KOVACICOVA (1975): A Chemical Confirmatory Test for Organophosphorus and Carbamate Insecticides and Triazine and Urea Herbicides with Reactive NH Moieties. *J. Agric. Food Chem.*, **23(2)**, 325-329.
- GUSTAFSON, D. I. (1989): Groundwater ubiquity score: A simple method for assessing pesticide leachability. *Environ. Toxicol. Chem.*, **8**, 339-357.
- HAIDER, K., M. SPITELLER, K. REICHERT und M. FILD (1992): Derivatization of humic compounds - an analytical approach for bound organic residues. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **46(1-3)**, 201-211.
- HASSALL, K. A. (1990): The Biochemistry and Uses of Pesticides, 2. Aufl., VCH, Weinheim New York Basel Cambridge.
- HATZINGER, P. B. und M. ALEXANDER (1997): Biodegradation of organic compounds sequestered in organic solids or in nanopores within silica particles. *Environ. Toxicol. Chem.*, **16(11)**, 2215-2221.
- HAYAR, S., C. MUNIER-LAMY, T. CHONE und M. SCHIAVON (1997): Physico-chemical versus microbial release of ¹⁴C-atrazine bound residues from a loamy clay soil incubated in laboratory microcosms. *Chemosphere*, **34(12)**, 2683-2697.
- HERZEL, F. (1987): Einstufung von Pflanzenschutzmitteln aus der Sicht des Trinkwasserschutzes. *Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienstes*, **39(7)**, 97-104.
- HOIGNÉ, J., B. C. FAUST, W. R. HAAG, F. E. SCULLY und R. G. ZEPP (1989): Aquatic Humic Substances as Sources and Sinks of Photochemically Produced Transient Reactants. In: *Aquatic Humic Substances. Influence on Fate and Treatment of Pollutants* (I. H. Suffet und P. MacCarthy, Hrsg.), Advances in Chemistry Series No. 219, American Chemical Society, Washington D.C., 363-381.
- HOLLAND, P. T., D. E. MCNAUGHTON und C. P. MALCOLM (1994): Multiresidue Analysis of Pesticides in Wines by Solid-Phase Extraction. *J. AOAC Int.*, **77(1)**, 79-86.
- JAMES, T. K., P. KLAFFENBACH, P. T. HOLLAND und A. RAHMAN (1995): Degradation of primisulfuron-methyl and metsulfuron-methyl in soil. *Weed Res.*, **35(2)**, 113-120.
- JOHANNESSEN, H., A. BECH-NIELSEN, A. HELWEG und I. S. FOMSGAARD (1996): Degradation of [¹⁴C]ethylenethiourea in surface and subsurface soil. *Sci. Total Environ.*, **191**, 271-276.

- KAPTEYN, J. C., R. J. MILLING, D. J. SIMPSON und M. A. DE WAARD (1992): Interaction of Azole Fungicides and Related Compounds with Cytochrom-P450 Isozymes from *Penicillium italicum* in in-vitro Assays. *Pestic. Sci.*, **36**, 273-282.
- KATAGI, T. (1993): Effect of Moisture Content and UV Irradiation on Degradation of Fenpropathrin on Soil Surfaces. *Journal of Pestic. Sci.*, **18(4)**, 333-341.
- KATO, T. (1986): Sterol Biosynthesis in Fungi, a Target for Broad Spectrum Fungicides. In: *Chemistry of Plant Protection 1. Sterol Biosynthesis, Inhibitors and Anti-Feeding Compounds* (W. S. Bowers, W. Ebing, T. R. Fukuto, D. Martin, R. Wegler und I. Yamamoto, Hrsg.), Springer Verl., Berlin Heidelberg New York Tokyo, 1-24.
- KHAN, S. U. (1995): Supercritical Fluid Extraction of Bound Pesticide Residues from Soil and Food Commodities. *J. Agric. Food Chem.*, **46(6)**, 1718-1723.
- KLEHR, M., J. IWAN und J. REIMANN (1983): An Experimental Approach to the Photolysis of Pesticides Adsorbed on Soil: Thidiazuron. *Pestic. Sci.*, **14**, 359-366.
- KNAEBEL, D. B., T. W. FEDERLE, D. C. MCAVOY und J. ROBIE VESTAL (1996): Microbial mineralization of organic compounds in acidic agricultural soil: Effects of preadsorption to various soil constituents. *Environ. Toxicol. Chem.*, **15(11)**, 1865-1875.
- KOINECKE, A., R. KREUZIG, M. BAHADIR, J. SIEBERS und H. G. NOLTING (1994): Investigations on the substitution of dichloromethane in pesticide residue analysis of plant materials. *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **349**, 301-305.
- KREUZIG, R. (1994): Simultaneous determination of pesticides and corresponding metabolites. In: *International HCH and Halogenated Pesticides Forum. Compilation of 1st and 2nd HCH-Forum* (J. Vigen, Hrsg.), Tauw Milieu, Deventer, 114-121.
- KUHN, M. (1997): persönliche Mitteilung
- LAFUENTE, M. T. und J. L. TADEO (1984): High performance liquid chromatography determination of prochloraz residues in citrus fruit. *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.*, **7(5)**, 268-270.
- LAFUENTE, M. T. und J. L. TADEO (1985): Residues analysis of post harvest imidazole fungicides in citrus fruit by HPLC and GLC. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **22(1-2)**, 99-108.
- LAFUENTE, M. T. und J. L. TADEO (1987): GLC multiresidue analysis of post harvest fungicides in citrus fruit. *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **328(1-2)**, 105-107.

- LAIGNELET, L., J. L. RIVIERE und J. C. LHUGUENOT (1992): Metabolism of an imidazole fungicide (prochloraz) in the rat after oral administration. *Food Chem. Toxicol.*, **30(7)**, 575-583.
- LECHÓN, Y., C. SÁNCHEZ-BRUNETE und J. L. TADEO (1997): Influence of the Laboratory Incubation Method on Chlortoluron and Terbutryn Degradation in Soil. *J. Agric. Food Chem.*, **45(3)**, 951-954.
- LEGRAND, M. F., E. COSTENTIN und A. BRUCHET (1991): Occurrence of 38 pesticides in various French surface and ground waters. *Environ. Technol.*, **12(11)**, 985-996.
- LERCH, R. N., E. MICHAEL THURMAN und E. L. KRUGER (1997): Mixed-Mode Sorption of Hydroxylated Atrazine Degradation Products in Soil: A Mechanism for Bound Residue. *Environ. Sci. Technol.*, **31(5)**, 1539-1546.
- MACLAINE PONT, M. A., H. P. VOGELZANG und K. C. SIEGMANN-KNOESTER (1980): The residue analysis of prochloraz in combination with dicloran. *Meded. Fac. Landbouwwet., Rijksuniv. Gent*, **45(4)**, 835-840.
- MALCOLM, R. L. und P. MACCARTHY (1986): Limitations in the Use of Commercial Humic Acids in Water and Soil Research. *Environ. Sci. Technol.*, **20(9)**, 904-911.
- MALKOMES, H.-P. (1991): Vergleich der TTC- und INT-Reduktion zum Nachweis von Pflanzenschutzmittelwirkungen auf die Dehydrogenaseaktivität im Boden. *Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienstes*, **43**, 52-57.
- MALKOMES, H.-P. und K. HEITKÄMPER (1995): Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität (TTC-Reduktion) im Boden - I. Einfluß von Boden und Zusatzstoffen. *Agrobiol. Res.*, **48(1)**, 83-92.
- MANSOUR, M. und F. KORTE (1986): Abiotic degradation pathways of selected xenobiotic compounds in the environment. In: *Studies on Environmental Science, 29, Chemistry for Protection of the Environment* (L. Pawlowski, G. Alaerts und W. J. Lacy, Hrsg.), Elsevier, Amsterdam, 257-269.
- MANSOUR, M., E. A. FEICHT, A. BEHECTI und I. SCHEUNERT (1997): Experimental approaches to studying the photostability of selected pesticides in water and soil. *Chemosphere*, **35(1/2)**, 39-50.
- METZGER, L. O. Y., C. MUNIER-LAMY, T. CHONÉ, M.-J. BELGY, F. ANDREUX und J.-C. VÉDY (1996): Fate of a sulfonylurea herbicide in an alluvial soil, as shown by experimental degradation of pyrimidine-2-¹⁴C-labeled rimsulfuron. *Chemosphere*, **33(4)**, 625-633.

- MILLER, G. C., V. R. HEBERT und W. W. MILLER (1989): Effect of Sunlight on Organic Contaminants at the Atmosphere-Soil Interface. In: *Reactions and Movements of Organic Chemicals in Soils* (B. L. Sawhney und K. Brown, Hrsg.), SSSA Special Publication No. 22, Kap. 5, Soil Science Society of America, Madison WI, 99-110.
- MISRA, B., P. W. GRAEBER und J. S. CHIB (1997): Photodegradation of Chloramben on a Soil Surface: A Laboratory-Controlled Study. *J. Agric. Food Chem.*, **45**(4), 1464-1467.
- MOSCHREFI, N. (1983): Ein neues Verfahren der Schlämmanalyse für die Bestimmung der Korngrößenzusammensetzung. *Mitt. Dtsch. Bodenk. Ges.*, **38**, 115-118.
- MURTHY, N. B. K., K. HUSTERT, P. N. MOZA und A. KETTRUP (1998): Photodegradation of selected fungicides on soil. *Fresenius Environ. Bull.*, **7**(1), 112-117.
- NAG, S. K. und P. DUREJA (1996): Photodegradation of Triadimefon on Glass and Soil Surfaces. *Pestic. Sci.*, **48**, 247-252.
- NEEDHAM, D. und I. R. CHALLIS (1991): The metabolism and excretion of prochloraz, an imidazole-based fungicide, in the rat. *Xenobiotica*, **21**(11), 1473-1482.
- NORDMEYER, H. (1988): Zum Verhalten von Pflanzenschutzmitteln im Boden und Grundwasser. *Mitt. Inst. Wasserwirtsch. Hydrol. Landwirtsch. Wasserbau Univ. Hannover*, **67**, 321-336.
- OECD (1981a): Guideline 106 for Testing of Chemicals - Adsorption/Desorption, 23 S.
- OECD (1981b): Guideline 304 A for Testing of Chemicals - Inherent Biodegradability in Soil, 11 S.
- OTHMER, H. (1993): Analyse und Simulation der Bodenwasserbewegung ackerbaulich intensiv genutzter Standorte Ostniedersachsens. Dissertation, TU Berlin, 261 S.
- PARKER, S. und J. P. LEAHEY (1988): Development of a method to investigate the photodegradation of pesticides. In: *Brighton Crop Prot. Conf. - Pests Dis.*, 2, 663-668.
- PARLAR, H. (1990): The role of photolysis in the fate of pesticides. In: *Progress in Pesticide Biochemistry*, 7, *Environmental Fate of Pesticides* (D. H. Hutson und T. R. Roberts, Hrsg.), Kap. 9, Wiley, Chichester, 245-276.

- PAYÁ-PÉREZ, A. B., A. CORTES, M. N. SALA und B. LARSEN (1992): Organic Matter Fractions Controlling the Sorption of Atrazine in Sandy Soils. *Chemosphere*, **25(6)**, 887-898.
- PERKOW, W. (1994): Wirksubstanzen der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel, 3. Aufl., Verl. Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- PICCOLO, A. (1997): persönliche Mitteilung
- PIEUCHOT, M., C. PERRIN-GANIER, J.-M. PORTAL und M. SCHIAVON (1996): Study on the mineralization and degradation of isoproturon in three soils. *Chemosphere*, **33(3)**, 467-478.
- PRINTZ, H., P. BURAUDEL und F. FÜHR (1995): Effect of organic amendment on degradation and formation of bound residues of methabenzthiazuron in soil under constant climatic conditions. *J. Environ. Sci. Health, Part B*, **30(4)**, 435-456.
- PUSSEMIER, L., S. GOUX, V. VANDERHEYDEN, P. DEBONGNIE, I. TRÉSINIE und G. FOUCART (1997): Rapid dissipation of atrazine in soils taken from various maize fields. *Weed Res.*, **37(3)**, 171-179.
- QIANG, T., S. XIAO-QUAN und N. ZHE-MING (1993): Comparative characteristic studies on soil and commercial humic acids. *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **347**, 330-336.
- RAVELLI, A., O. PANTANI, L. CALAMAI und P. FUSI (1997): Rates of chlorsulfuron degradation in three Brazilian oxisols. *Weed Res.*, **37(1)**, 51-59.
- ROBERTS, T. R., W. KLEIN, G. G. STILL, P. C. KEARNEY, N. DRESCHER, J. DESMORAS, H. O. ESSER, N. AHARONSON und J. W. VONK (1984): Non-extractable pesticide residues in soils and plants. *Pure Appl. Chem.*, **56(7)**, 945-956.
- ROMERO, E., G. DIOS, M. D. MINGORANCE, M. W. MATALLO, A. PEÑA und F. SÁNCHEZ-RASERO (1998): Photodegradation of mecoprop and dichlorprop on dry, moist and amended soil surfaces exposed to sunlight. *Chemosphere*, **37(3)**, 577-589.
- ROUCHAUD, J., F. GUSTIN, D. CALLENS, M. VAN HIMME, R. BULCKE und R. SARRAZYN (1993): Soil biodegradation of imazabenz-methyl and its acid metabolite in wheat crops and in sugar beets replacement crops. *Weed Res.*, **33(6)**, 469-477.

- ROUCHAUD, J., F. GUSTIN, D. CALLENS, M. VAN HIMME und R. BULCKE (1994): Formation and persistence of metabolites of imazabenz-methyl in a sandy loam soil. *Weed Res.*, **34(5)**, 309-318.
- ROUCHAUD, J., F. GUSTIN, D. CALLENS und R. BULCKE (1996): Atrazine soil metabolism in maize fields treated with organic fertilizers. *Weed Res.*, **36(2)**, 105-112.
- ROUCHAUD, J., O. NEUS, D. CALLENS und R. BULCKE (1997a): Soil Metabolism of the Herbicide Rimsulfuron under Laboratory and Field Conditions. *J. Agric. Food Chem.*, **45(8)**, 3283-3291.
- ROUCHAUD, J., O. NEUS und O. HERMANN (1997b): Influence of application rate and manure amendment on chloridazon dissipation in soil. *Weed Res.*, **37(3)**, 121-127.
- RÜCKERT, M. (1997): Untersuchungen zum Abbau polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoffe im Boden unter besonderer Berücksichtigung korrespondierender Metabolite und gebundener Rückstände. Dissertation, TU Braunschweig, 146 S.
- RÜTTERS, H., A. HÖLLRIGL-ROSTA, R. KREUZIG und M. BAHADIR (1998): Sorption Behavior of Prochloraz in Different Soils. *J. Agric. Food Chem.*, in Druck
- SABADIE, J. (1997): Degradation of bensulfuron-methyl on various minerals and humic acids. *Weed Res.*, **37(6)**, 411-418.
- SAGAN, K. L., M. B. BELYK, R. L. MACDONALD und J. CHRISTOPHER HALL (1998): Dissipation of [^{14}C]Amidosulfuron (HOE 075032) in Prairie Soils. *J. Agric. Food Chem.*, **46(3)**, 1205-1209.
- SAHA, T. und P. SUKUL (1997): Metalaxyl - its persistence and metabolism in soil. *Toxicol. Environ. Chem.*, **58**, 251-258.
- SCHEUNERT, I., C. TER MEER-BEKK und F. KORTE (1986): Distribution and biodegradability of ^{14}C -residues bound in various soil fractions after treatment of the soil with model ^{14}C -chemicals. In: *Quantification, Nature and Bioavailability of Bound ^{14}C -Pesticide Residues in Soil, Plants and Food* (International Atomic Energy Agency, Hrsg.), International Atomic Energy Agency, Wien, 31-40.
- SCHINKEL, K., H.-G. NOLTING und J.-R. LUNDEHN (1986): Verbleib von Pflanzenschutzmitteln im Boden - Abbau, Umwandlung und Metabolismus. In: *Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln*, Teil IV, 4-1, BBA, Braunschweig, 35 S.

- SCHLETT, C. (1991): Multi-residue-analysis of pesticides by HPLC after solid phase extraction. *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **339**, 344-347.
- SCHMID, G. (1988): Untersuchungen zum Nachweis von Pestiziden in Wasser mittels der HPLC. Diplomarbeit, Universität Hohenheim, 91 S.
- SCHMIDT, H.-H. (1998): Die Wirkstoffmeldungen nach §19 des Pflanzenschutzgesetzes. *Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienstes*, **50(1)**, 79-88.
- SCOW, K. M. (1993): Effect of Sorption-Desorption and Diffusion Processes on the Kinetics of Biodegradation of Organic Chemicals in Soil. In: *Sorption and Degradation of Pesticides and Organic Chemicals in Soil* (D. M. Linn, Hrsg.), SSSA Special Publication No. 32, Kap. 6, Soil Science Society of America, Madison WI, 73-114.
- SENESE, N. und T. M. MIANO (1995): The role of abiotic interactions with humic substances on the environmental impact of organic pollutants. In: *Environmental Impact of Soil Component Interactions* (P. M. Huang, Hrsg.), Volume 1, Lewis, Boca Raton, 311-335.
- SFB 179 (1989): Forschungsbericht 1986-1989 des Sonderforschungsbereichs 179 „Wasser- und Stoffdynamik in Agrarökosystemen“, Braunschweig.
- SILTANEN, H., R. MUTANEN und P. KUUKKA (1989): Residue Analyses of the Official Testing of Pesticides 1987. *Publ. State Inst. Agric. Chem. Finl.*, **29**, 78 S.
- SKIDMORE, M. W., D. KIRKPATRICK und D. SHAW (1994): Influence of Application Methods on the Degradation of Permethrin in Laboratory, Soil Aerobic Metabolism Studies. *Pestic. Sci.*, **42**, 101-107.
- SMITH, C. A., Y. IWATA und F. A. GUNTHER (1978): Conversion and Disappearance of Methidathion on Thin Layers of Dry Soil. *J. Agric. Food Chem.*, **26(4)**, 959-962.
- SOMERVILLE, L. (1980): The analysis of prochloraz residues in cereals. *Meded. Fac. Landbouwwet., Rijksuniv. Gent*, **45(4)**, 841-848.
- SORENSEN, B. A., W. C. KOSKINEN, D. D. BUHLER, D. L. WYSE, W. E. LUESCHEN und M. D. JORGENSEN (1994): Formation and Movement of ¹⁴C-Atrazine Degradation Products in a Clay Loam Soil in the Field. *Weed Sci.*, **42(4)**, 618-624.
- STALDER, L. und W. PESTEMER (1988): Availability to plants of herbicide residues in soil - Part I: A rapid method for estimating potentially available residues of herbicides. *Weed Res.*, **20**, 341-347.

- STOCKMAIER, M., R. KREUZIG und M. BAHADIR (1996): Investigations on the Behaviour of Fenpropimorph and its Metabolite Fenpropimorphic Acid in Soils. *Pestic. Sci.*, **46**, 361-367.
- STOCKMAIER, M., R. KREUZIG und M. BAHADIR (1997): Labor- und Felduntersuchungen zum Abbau- und Sorptionsverhalten des Morpholinfungizids Aldimorph im Boden. *Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienstes*, **49(1)**, 5-10.
- STREK, H. J. (1998a): Fate of Chlorsulfuron in the Environment. 1. Laboratory Evaluations. *Pestic. Sci.*, **53(1)**, 29-51.
- STREK, H. J. (1998b): Fate of Chlorsulfuron in the Environment. 2. Field Evaluations. *Pestic. Sci.*, **53(1)**, 52-70.
- THOM, E., J. C. G. OTTOW und G. BENCKISER (1997): Degradation of the fungicide difenoconazole in a silt loam soil as affected by pretreatment and organic amendment. *Environ. Pollut.*, **96(3)**, 409-414.
- TIMME, G., H. FREHSE und V. LASKA (1986): Zur statistischen Interpretation und graphischen Darstellung des Abbauverhaltens von Pflanzenbehandlungsmittel-Rückständen II. *Pflanzenschutz-Nachr. Bayer*, **39(2)**, 188-204.
- TOMLIN, C. (1994): The Pesticide Manual, 10. Aufl., British Crop Protection Council and Royal Society of Chemistry, Surrey and Cambridge.
- TRUBEY, R. K., R. A. BETHEM und B. PETERSON (1998): Degradation and Mobility of Sulfometuron-methyl (Oust Herbicide) in Field Soil. *J. Agric. Food Chem.*, **46(6)**, 2360-2367.
- VASILYEVA, G. K., I. N. GOGTOV und E. G. SUROVTSEVA (1992): Adaptation of Microorganisms for Pesticide Degradation. In: *Fate of Pesticides and Chemicals in the Environment*, Kap. 16, Wiley-Interscience, New York, 259-273.
- VÖLKEL, W., A. LIEURADE, J.-M. PORTAL, M. MANSOUR und F. ANDREUX (1994): Addition products of chloroanilines and dealkylate atrazines on humic like polymers: a model of pesticide bound residues in soil and water media. In: *Proceedings of the 5th International Workshop „Environmental Behaviour of Pesticides and Regulatory Aspects“* (A. Copin, Hrsg.), European Study Service, Risxensart, 222-228.

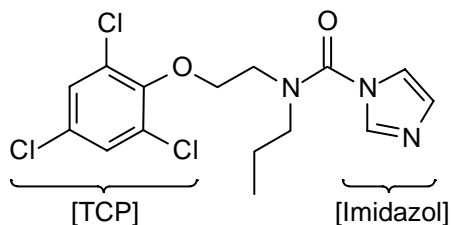
- VOLMER, D., K. LEVSEN und G. WÜNSCH (1994): Thermospray liquid chromatographic-mass spectrometric multi-residue determination of 128 polar pesticides in aqueous environmental samples. *J. Chromatogr. A*, **660**(1-2), 231-248.
- WAIS, A., E. G. WITTE, P. BURAUDEL, K. HAIDER, H. M. HELAL und F. FÜHR (1995): ^{13}C -CP/MAS-NMR-Untersuchungen der Bindungen von Xenobiotika an Pflanzenmaterial und Modellhuminstoffe. *Mitt. Dtsch. Bodenkd. Ges.*, **76**, 477-480.
- WEBER, J. B. (1982): Ionization and Adsorption-Desorption of Tricyclazole by Soil Organic Matter, Montmorillonite Clay, and Cape Fear Sandy Loam Soil. *J. Agric. Food Chem.*, **30**, 584-588.
- WEBER, J. B., P. H. Shea und S. B. Weed (1986): Fluridone Retention and Release in Soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **50**, 582-588.
- WEBER, J. B., J. A. BEST und J. U. GONESE (1993): Bioavailability and Bioactivity of Sorbed Organic Chemicals. In: *Sorption and Degradation of Pesticides and Organic Chemicals in Soil* (D. M. Linn, Hrsg.), SSSA Special Publication No. 32, Kap. 10, Soil Science Society of America, Madison WI, 153-196.
- WOLFE, N. L., U. MINGELGRIN und G. C. MILLER (1990): Abiotic Transformations in Water, Sediments, and Soil. In: *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impact and Modeling* (H. H. Cheng, Hrsg.), Soil Science Society of America, Madison WI, 103-168.
- ZIECHMANN, W. und U. MÜLLER-WEGENER (1990): *Bodenchemie*, BI Wissenschaftsverl., Mannheim Wien Zürich, 326 S.

Anhang

Tabelle A.1

Charakteristische Massen bei der MS-Untersuchung von Prochloraz (PCZ) via Direkteinlaß (SSQ 700, Quelltemperatur 120 °C, Tiegelttemperatur: NCI - 70 °C, PCI - 100 °C, EI - 200 °C), jeweilige Basepeaks sind durch (*) markiert

Ionisation	m/z	Cl-Atome	Deutung
NCI	410	4	PCZ + Cl
	375	3	PCZ
	308	3	PCZ - [Imidazol]
	214 (*)	1	PCZ - [Imidazol] - CO - 2 Cl + 4 H (?)
	196	3	[TCP] + H
	161	2	[TCP] - Cl
PCI	376	3	PCZ + H ⁺
	308 (*)	3	PCZ - [Imidazol]
	274	2	PCZ - [Imidazol] - Cl + H ⁺
	180	0	PCZ - [TCP]
	163	2	[TCP] - Cl + 2 H + H ⁺
	112	0	
	69	0	
EI	376	3	PCZ + H
	266	3	PCZ - [Imidazol] - C ₃ H ₇ + H (?)
	195	3	[TCP]
	180 (*)	0	PCZ - [TCP]
	70	0	

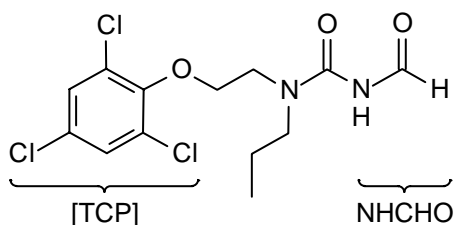


PCZ	375 amu
[TCP]	195 amu
[Imidazol]	67 amu
CO	28 amu

Tabelle A.2

Charakteristische Massen bei der MS-Untersuchung von Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH) via Direkteinlaß (SSQ 700, Quelltemperatur 120 °C, Tiegeltemperatur: NCI - 70 °C, PCI - 100 °C, EI - 200 °C), jeweilige Basepeaks sind durch (*) markiert

Ionisation	m/z	Cl-Atome	Deutung
NCI	352	3	PCZ-FH
	316	2	PCZ-FH - HCl
	196 (*)	3	[TCP] + H
	191	1	
	162	(?)	
	155	0	
PCI	381	3	PCZ-FH + C ₂ H ₅ ⁺
	353	3	PCZ-FH + H ⁺
	308	3	PCZ-FH - NHCHO
	274	2	PCZ-FH - NHCHO - Cl + H ⁺
	197	2	
	157 (*)	0	PCZ-FH - [TCP]
	129	0	
	112	0	
	86	0	
EI	353	3	PCZ-FH + H
	252	3	
	195	3	[TCP]
	157 (*)	0	PCZ-FH - [TCP]
	129	0	
	86	0	
	72	0	

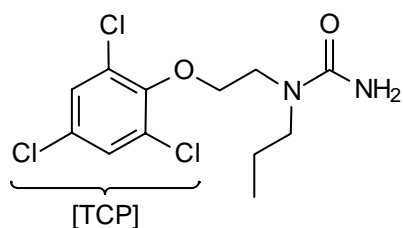


PCZ-FH	352 amu
[TCP]	195 amu
NHCHO	44 amu
HCl	36 amu
C ₂ H ₅	29 amu

Tabelle A.3

Charakteristische Massen bei der MS-Untersuchung von Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H) via Direkteinlaß (SSQ 700, Quelltemperatur 120 °C, Tiegeltemperatur: NCI - 70 °C, PCI - 100 °C, EI - 200 °C), jeweilige Basepeaks sind durch (*) markiert

Ionisation	m/z	Cl-Atome	Deutung
NCI	324	3	PCZ-H
	196	3	[TCP] + H
	163 (*)	1	
PCI	353	3	PCZ-H + C ₂ H ₅ ⁺
	325	3	PCZ-H + H ⁺
	291	2	PCZ-H - Cl + H + H ⁺
	282	3	PCZ-H - NH ₂ - CO + H + H ⁺
	163	2	[TCP] - Cl + 2H + H ⁺
	129 (*)	0	PCZ-H - [TCP]
	86	0	
EI	325	3	PCZ-H + H
	252	3	
	195	3	[TCP]
	129 (*)	0	PCZ-H - [TCP]
	86	0	
	72	0	



PCZ-H	324 amu
[TCP]	195 amu
NH ₂	16 amu
CO	28 amu
C ₂ H ₅	29 amu

Tabelle A.4

Konzentrationen in $\mu\text{g kg}^{-1}$ Boden von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH) und Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H) im Feldversuch NK, 1995 nach Applikation in den Bestand (n.n. = nicht nachgewiesen; < 10 = nicht quantifiziert)

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H
0	116	< 10	n.n.
1	72	15	n.n.
3	110	30	< 10
7	47	25	< 10
14	59	22	27
28	35	11	24
56	28	< 10	58

Tabelle A.5

Konzentrationen in $\mu\text{g kg}^{-1}$ Boden von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH) und Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H) im Feldversuch NW, 1995 nach Applikation in den Bestand (n.n. = nicht nachgewiesen; < 10 = nicht quantifiziert)

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H
0	51	< 10	n.n.
1	62	14	< 10
3	60	69	13
7	32	49	14
14	16	42	15
28	24	55	47
58	13	22	67

Tabelle A.6

Konzentrationen in $\mu\text{g kg}^{-1}$ Boden von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH) und Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H) im Feldversuch NK, 1996 nach direkter Bodenapplikation (n.n. = nicht nachgewiesen; < 10 = nicht quantifiziert)

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H
1	187	33	18
2	130	60	34
5	119	58	50
7	104	64	44
14	90	42	105
23	68	45	67
57	42	17	95

Tabelle A.7

Konzentrationen in $\mu\text{g kg}^{-1}$ Boden von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH) und Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H) im Feldversuch NW, 1996 nach direkter Bodenapplikation (n.n. = nicht nachgewiesen; < 10 = nicht quantifiziert)

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H
0	232	< 10	< 10
1	187	44	n.n.
2	218	95	19
5	144	68	16
7	171	88	28
14	165	113	85
23	131	66	54
57	103	38	94

Tabelle A.8

Konzentrationen in $\mu\text{g kg}^{-1}$ Boden von Prochloraz (PCZ) und Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H) im Laborabbauversuch mit dem Boden NK284 nach Dotierung mit dem etwa Neunfachen der praxisüblichen Aufwandmenge

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-H
0	3049	60
2	3011	68
7	2704	82
14	2607	77
28	2631	85
56	2011	106

Tabelle A.9

Anteile in % von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH), Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H), des unbekannten polaren Metaboliten (unbk1) sowie von Mineralisation (Min) und nichtextrahierbaren Rückständen (neR) im Laborabbauversuch mit dem Boden NK284 bei 25 °C

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H	unbk1	Min	neR
0	85,6	4,7	1,7	2,1	0,0	1,0
2	79,3	2,0	1,6	1,9	0,5	4,2
7	72,4	5,2	2,8	1,7	2,0	7,9
14	68,9	2,5	2,3	1,5	2,6	8,8
28	59,4	4,9	2,8	2,1	4,0	10,9
56	64,4	3,4	3,7	2,6	6,4	14,1
112	57,6	0,0	3,0	2,3	11,7	20,5
300	37,6	0,0	2,9	2,1	20,1	26,4

Tabelle A.10

Anteile in % von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH), Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H), des unbekannten polaren Metaboliten (unbk1) sowie von Mineralisation (Min) und nichtextrahierbaren Rückständen (neR) im Laborabbauversuch mit dem Boden NK284 bei 30 °C

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H	unbk1	Min	neR
1	89,1	0,0	0,0	0,7	0,1	3,5
3	81,1	0,0	0,5	1,5	0,1	5,9
7	77,8	0,0	0,7	2,3	0,5	9,8
14	70,6	0,0	1,0	2,8	1,4	16,0
56	38,3	0,0	1,5	4,5	6,4	26,6

Tabelle A.11

Anteile in % von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH), Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H), des unbekannten polaren Metaboliten (unbk1) sowie von Mineralisation (Min) und nichtextrahierbaren Rückständen (neR) im Laborabbauversuch mit dem Boden NW212T3 bei 30 °C

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H	unbk1	Min	neR
1	80,3	0,7	0,3	0,8	0,0	3,9
3	85,0	0,6	0,4	1,4	0,1	9,5
7	74,4	0,4	0,4	2,5	0,2	13,5
14	68,9	0,4	0,5	3,8	0,3	20,5
56	47,7	0,0	0,9	10,8	0,8	30,2

Tabelle A.12

Anteile in % von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH), Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H), des unbekannten polaren Metaboliten (unbk1) sowie von Mineralisation (Min) und nichtextrahierbaren Rückständen (neR) im Laborabbauversuch mit dem Boden NW101/a

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H	unbk1	Min	neR
3	84,6	0,8	0,5	1,9	0,2	4,2
28	68,7	0,5	1,4	5,8	1,3	13,4
56	56,1	0,4	1,8	2,4	3,2	17,4

Tabelle A.13

Anteile in % von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH), Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H), des unbekannten polaren Metaboliten (unbk1) sowie von Mineralisation (Min) und nichtextrahierbaren Rückständen (neR) im Laborabbauversuch mit dem Boden NW101/b

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H	unbk1	Min	neR
3	87,0	0,5	0,5	0,9	0,1	5,9
28	69,1	0,3	1,0	5,9	0,5	16,0
56	60,1	0,3	1,2	10,8	1,1	16,6

Tabelle A.14

Anteile in % von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH), Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H), des unbekannten polaren Metaboliten (unbk1) sowie von Mineralisation (Min) und nichtextrahierbaren Rückständen (neR) im Laborabbauversuch mit dem Boden NW101/c

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H	unbk1	Min	neR
3	86,7	0,7	0,5	1,2	0,1	5,3
28	62,7	0,4	0,9	5,5	0,6	12,9
56	58,4	0,0	1,1	10,8	1,4	17,7

Tabelle A.15

Anteile in % von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH), Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H), des unbekannten polaren Metaboliten (unbk1) sowie von Mineralisation (Min) und nichtextrahierbaren Rückständen (neR) im Laborabbauversuch mit dem Boden NK273 im Vergleich zum Boden NK284 (Referenz)

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H	unbk1	Min	neR
3	63,3	0,5	0,9	1,6	0,3	8,3
28	50,1	0,3	1,7	1,2	8,1	20,8
56	39,3	0,2	1,9	1,3	16,4	28,4
56 (Referenz)	42,5	0,0	2,2	1,3	12,2	28,3

Tabelle A.16

Anteile in % von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH), Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H), des unbekannten polaren Metaboliten (unbk1) sowie von Mineralisation (Min) und nichtextrahierbaren Rückständen (neR) im Laborabbauversuch mit dem Boden NK284, dotiert mit gemahlenem Triticalestroh

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H	unbk1	Min	neR
3	67,9	0,5	1,5	1,7	0,5	8,5
28	45,5	0,5	2,6	1,4	8,4	27,4
56	30,0	0,3	3,2	0,9	18,3	30,8

Tabelle A.17

Anteile in % von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH), Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H), des unbekannten polaren Metaboliten (unbk1) sowie von Mineralisation (Min) und nichtextrahierbaren Rückständen (neR) im Laborabbauversuch mit sterilisiertem Boden NK284

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H	unbk1	Min	neR
28	66,4	0,5	0,6	0,6	0,1	15,9
56	57,2	0,5	0,8	1,4	0,1	21,5

Tabelle A.18

Anteile in % von Prochloraz (PCZ), Prochloraz-Formylharnstoff (PCZ-FH), Prochloraz-Harnstoff (PCZ-H), des unbekannten polaren Metaboliten (unbk1) sowie von Mineralisation (Min) und nichtextrahierbaren Rückständen (neR) im Laborabbauversuch mit sterilisiertem Boden NW212T3

Tage nach Applikation	PCZ	PCZ-FH	PCZ-H	unbk1	Min	neR
28	60,7	0,0	0,9	3,5	0,0	18,0
56	52,1	0,7	1,3	4,2	0,1	25,5

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Andreas Höllrigl-Rosta
Geburtsdatum: 20.11.1966
Geburtsort: Wolfsburg
Familienstand: ledig

Schul Ausbildung

1973 - 1977 Grund- und Hauptschule Ehmén
1977 - 1979 Orientierungsstufe Eichendorffschule Wolfsburg
1979 - 1986 Gymnasium Fallersleben
1986 Abitur

Hochschulausbildung

1986 - 1994 Studium der Chemie an der Technischen Universität
Braunschweig
1989 Diplom-Vorprüfung
1994 Abschluß: Diplom (Dipl.-Chem.)

Tätigkeiten

15.04.94 - 31.12.96 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für
Ökologische Chemie und Abfallanalytik,
TU Braunschweig
01.08.98 - 12.02.99 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Walther-Straub-
Institut für Pharmakologie und Toxikologie,
LMU München
ab 15.02.99 Wissenschaftlicher Angestellter bei der Biologischen
Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Braunschweig, Fachgruppe Chemische Mittelprüfung